



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

- Laboratorio Instituto Prevision Social-Misiones

-Laboratorio de Microbiología Clínica. Cátedra Virología. Departamento Microbiología. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones

- Área de Inmunología y Virología Clínica. Cátedra de Microbiología Clínica. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA).

- Laboratorio de Clamidas y Virus Papiloma Humano. Instituto de Virología. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba

Análisis de la utilidad del balance del contenido vaginal, BACOVA, asociado a la infección por agentes bacterianos y virales prevalentes del tracto genital inferior en mujeres de edad fértil

GRACIELA BEATRIZ JORDÁ

DIRECTOR: Dr. Marcelo Rodríguez Fermepin

DIRECTOR ADJUNTO: Dra. Andrea Carolina Entrocassi

2016

RESUMEN

La complejidad de la vagina humana hace que su microbioma cambie en periodos cortos de tiempo. El riesgo de infección y de contraer enfermedades en una mujer puede modificarse a lo largo de los años.

El balance del contenido vaginal o BACOVA es el estudio morfológico integral del contenido vaginal y contribuye al control, seguimiento clínico y terapéutico de las disfunciones vaginales en laboratorios de todo tipo de complejidad.

Se invitó a participar del proyecto a las mujeres en edad fértil de Posadas (Misiones), que concurrieron entre los años 2011 y 2013 al laboratorio del Instituto de Previsión Social-Misiones con el objetivo de caracterizar los estados vaginales básicos (EVBs), identificar y determinar la frecuencia de Levaduras, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* y Virus Papiloma Humano (VPH), analizar posibles asociaciones y la utilidad del BACOVA frente a estos agentes.

Se estudiaron 505 muestras de mujeres que aceptaron participar, 265 correspondieron a mujeres sintomáticas incorporadas de manera consecutiva y 240 fueron asintomáticas. Ciento seis (20,99%) estaban embarazadas, y de éstas 57 presentaron síntomas. El 45,42% de las mujeres que no refirieron síntomas presentaron disfunciones vaginales.

La distribución de los EVBs en mujeres sintomáticas y asintomáticas respectivamente fue: EVB I (microbiota normal) 20,75% y 54,58%; EVB II (microbiota normal con respuesta inflamatoria) 20,37% y 10,41%; EVB III (microbiota intermedia) 6,79% y 10,83%; EVB IV (vaginosis bacteriana) 26,41% y 15,83%; y EVB V (vaginitis microbiana inespecífica) 25,66% y 8,33%.

El porcentaje de agentes infecciosos en mujeres sintomáticas y asintomáticas respectivamente fue: HPV 29,4% y 32,1%; Levaduras 12,5% y 4,6%; *C. trachomatis* 11,3% y 5,4%; y *T. vaginalis* 4,5% y 0,8%. En este estudio no se obtuvo desarrollo de *N. gonorrhoeae* en ninguna de las muestras estudiadas.

La detección de levaduras se observó con mayor frecuencia en mujeres sintomáticas comparado con las asintomáticas, tanto en toda la población de estudio ($p=0,002$) como en las embarazadas ($p=0,019$).

Se observó una mayor frecuencia de infección por *T. vaginalis* y *C. trachomatis* en mujeres sintomáticas y en mujeres con EVB V.

La infección por HPV se asoció a mujeres con mayor número de parejas sexuales. Al genotipificar los HPV, predominaron los genotipos de alto riesgo y el más frecuente fue el HPV16 (35,13%).

Los resultados de valores predictivos y de razones de verosimilitud indican la escasa utilidad del manejo sindrómico en la consulta médica para predecir correctamente la VB.

Los VPP resultaron bajos para infección por *T. vaginalis* (6,58%), *C. trachomatis* (11,97%) y HPV (31,66). El VPN resultó 99,11% en la infección por *T. vaginalis* indicando que en presencia de EVB sin RIV la probabilidad de padecer esta infección es muy baja.

Del análisis de los parámetros de exactitud de la prueba de RIV en mujeres sintomáticas y asintomáticas se observó que la mayor fuerza de esta prueba como poder discriminante, correspondió a los valores obtenidos para predecir infecciones por *T. vaginalis* respecto a infección por *C. trachomatis* o HPV.

Los resultados obtenidos en el estudio de la distribución de los EVBs en muestras de mujeres atendidas en la mayor obra social de la Provincia de Misiones mostraron, una frecuencia elevada de disfunciones vaginales con predominio de vaginosis bacteriana y vaginitis microbiana inespecífica.

El EVB V mostró una fuerte asociación con la infección por *T. vaginalis* ($p < 0,001$, $OR = 19,70$ $IC_{95\%} = 5,30-72,30$) y en menor grado con *C. trachomatis* ($p < 0,001$, $OR = 3,21$ $IC_{95\%} = 1,64-6,25$) y con levaduras ($p = 0,036$, $OR = 2,15$ $IC_{95\%} = 1,07-4,31$)

El BACOVA permitió una diferenciación eficaz de vaginosis y vaginitis independientemente de la presencia de síntomas clínicos en el grupo de estudio.

El conocimiento epidemiológico de las disfunciones vaginales en las mujeres estudiadas contribuirá a la optimización de medidas de prevención y control de las infecciones transmitidas sexualmente y a la protección de la salud sexual y reproductiva en las mujeres afiliadas al Instituto de Previsión Social de Misiones

El hallazgo de un porcentaje elevado de disfunciones vaginales sin etiología demostrada, mediante BACOVA, promueve la búsqueda de agentes de transmisión sexual.

Del mismo modo sería importante avanzar en la implementación de métodos más sensibles en la investigación de *T. vaginalis* y en la investigación de genotipos de *C. trachomatis* circulantes en la región.

AGRADECIMIENTOS

Llegó el momento tan anhelado y debo agradecer a todas las personas que de una u otra manera han colaborado para que este trabajo se concretara.

En primer lugar quiero agradecer a mis directores de tesis, los doctores Marcelo Rodríguez Fermepin y Carolina Entrocassi por su gran apoyo y porque han sabido transmitirme su conocimiento y profesionalidad.

No me alcanzan las palabras para expresarle mi infinita gratitud al profesor José Manuel Ramos Rincón por su gran aporte desinteresado y valioso en la tarea de procesamiento y análisis estadístico de los datos recogidos durante estos años.

Al Dr. Ramón de Torres por su incansable lucha por formar profesionales, por su calidad humana, por su honestidad y por su constante lucha por defender nuestra profesión.

A las autoridades del IPS, al director y amigo incondicional Eduardo Pegels, a los compañeros del sector bacteriología Laura, Yani, Lorena, Luis, Mercedes y especialmente a Mariela (amiga incondicional), que me brindaron todo su apoyo constantemente. Especialmente a María Lorena y a Nati por estar siempre, desde el vamos... por ayudarme, por muchas horas de trabajo... y también un poco de charla.

A la Dra. Cecilia Cuffini y Jessica Mosman por recibirme y enseñarme con paciencia y mucho profesionalismo y a todo el equipo del laboratorio que supieron hacerme sentir muy bien, como si estuviera en casa.

A Pochi y su familia por abrirme las puertas de su casa y brindarme contención entre mates y charlas.

A Silvina por su gran ayuda con la informática y en el formato final y además por aguantarme, acompañarme, escucharme, muchas gracias.

A Lucy Parker un gracias enorme por ayudarme en la revisión final.

A mi esposo Jorge todo mi amor y agradecimiento por su valiosísima ayuda en todos los aspectos, desde lo emocional hasta lo científico- académico y sobre todo por su constante aliento y no permitir que me rinda jamás

A mis hijos Pablo, Vero y Sofi, los motores de mi vida, a quienes dedico este trabajo, cuando quería desistir eran la razón para seguir adelante.

ÍNDICE



Costanera de la ciudad de Posadas (Misiones)

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	21
1.1. Microbiota vaginal	23
1.2. Infecciones del tracto genital inferior	25
1.3. Disfunción Vaginal	26
1.3.1. Definición de BACOVA	26
1.3.2. Interpretación clínica de los estados vaginales básicos	27
1.3.2.1. EVB I: Microbiota Normal (MN)	27
1.3.2.2. EVB II: Microbiota normal con reacción inflamatoria significativa (MN+RIV)	27
1.3.2.3. EVB III: Microbiota Intermedia (MI)	28
1.3.2.4. EVB IV: Vaginosis bacteriana (VB)	29
1.3.2.5. EVB V: Vaginitis Microbiana Inespecífica (VMI)	30
1.3.3. Vaginosis Bacteriana	30
1.3.4. Vaginitis Convencionales	32
1.3.4.1. Vulvovaginitis por Levaduras	32
1.3.4.2. Vaginitis por <i>Trichomonas vaginalis</i>	33
1.4. Agentes virales y bacterianos asociados a infecciones de transmisión sexual	34
1.4.1. <i>Trichomonas vaginalis</i>	34
1.4.1.1. Epidemiología	34
1.4.1.2. Biología y Morfología	35
1.4.1.3. Patogenia	35

1.4.1.4. Aspectos Clínicos	36
1.4.1.5. Diagnóstico.....	36
1.4.1.6. Tratamiento.....	37
1.4.2. <i>Chlamydia trachomatis</i>	37
1.4.2.1. Definición y clasificación taxonómica	37
1.4.2.2. Epidemiología	37
1.4.2.3. Ciclo de vida del género <i>Chlamydia</i>	38
1.4.2.4. Estructura de <i>Chlamydia trachomatis</i>	39
1.4.2.5. Biodiversidad de <i>Chlamydia trachomatis</i>	39
1.4.2.6. Aspectos clínicos	40
1.4.2.7. Diagnóstico.....	40
1.4.2.8. Tratamiento.....	40
1.4.3. <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43
1.4.3.1. Definición/ Clasificación Taxonómica	43
1.4.3.2. Epidemiología.....	43
1.4.3.3. Biología y Morfología.....	44
1.4.3.4. Estructura antigénica. Factores de virulencia.....	44
1.4.3.5. Mecanismos de patogenia	45
1.4.3.6. Aspectos clínicos	45
1.4.3.7. Diagnóstico.....	46
1.4.3.8. Tratamiento.....	47
1.4.4. Virus Papiloma Humano.....	48
1.4.4.1. Epidemiología.....	49
1.4.4.2. Estructura y composición química.....	49
1.4.4.3. Patogenia	50
1.4.4.4. Aspectos clínicos	51
1.4.4.5. Cofactores en la carcinogénesis del tracto genital asociada a la infección por HPV.....	52
1.4.4.6. Diagnóstico.....	53
1.4.4.7. Tratamiento.....	53
1.4.4.8. Prevención.....	53
1.5. Aspectos epidemiológicos	54

1.5.1. Estudio de las pruebas diagnósticas	54
1.5.2. Exactitud de una prueba.....	55
1.5.3. Valor predictivo	55
1.5.4. Razones de verosimilitud	56
2. ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	57
2.1. Antecedentes	59
2.2. Justificación	60
2.3. Hipótesis.....	61
2.4. Objetivos.....	61
2.4.1. Objetivo general	61
2.4.2. Objetivos específicos.....	61
3. MATERIALES Y MÉTODOS	63
3.1. Diseño del estudio	65
3.2. Lugar de Desarrollo del estudio.....	65
3.3. Población del estudio	65
3.4. Criterios de selección de sujetos.....	65
3.4.1. Criterios de inclusión	65
3.4.2. Criterios de exclusión	66
3.5. Definición del tamaño muestral	66
3.6. Aspectos éticos.....	66
3.7. Metodología para la recolección de datos y muestras cervicales	66
3.8. Determinación del BACOVA.....	67
3.8.1. Examen en fresco.....	67
3.8.2. Examen de los extendidos teñidos con la coloración de Gram.....	68
3.8.3. Examen de los extendidos teñidos con la coloración de Giemsa	69
3.9. Detección de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	70
3.10. Procesamiento de las muestras para la realización de técnicas de amplificación de ADN	70
3.10.1. Extracción de ADN	70
3.10.2. Calidad de la muestra.....	70

3.11. Detección de <i>Chlamydia trachomatis</i>	71
3.12. Detección del Virus Papiloma Humano	72
3.12.1. Detección del genotipo de HPV por el estudio del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)	72
3.13. Determinación de los valores predictivos	73
3.14. Análisis Estadístico	75
4. RESULTADOS	77
4.1. Distribución y características de las mujeres estudiadas	79
4.2. Distribución de los Estados Vaginales Básicos	80
4.3. Respuesta inflamatoria en los diferentes grupos de la población	82
4.4. Comparación de los Estados Vaginales Básicos	83
4.4.1. Estados Vaginales Básicos asociados a daño vs estados Vaginales Básicos no patológicos	83
4.4.2. Comparación de Vaginositis Bacteriana vs los demás estados Vaginales Básicos	83
4.4.3. Estados Vaginales Básicos IV y V vs Estados Vaginales Básicos I, II y III	84
4.5. Investigación de levaduras	85
4.5.1. Prevalencia de levaduras en los Estados Vaginales Básicos	86
4.6. Investigación de <i>Trichomonas vaginalis</i>	87
4.7. Investigación de <i>Chlamydia trachomatis</i>	87
4.8. Investigación de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	89
4.9. Investigación del Virus Papiloma Humano	89
4.10. Asociación entre los Estados Vaginales Básicos y los diferentes agentes etiologicos	92
4.10.1. Presencia de <i>Trichomonas vaginalis</i> en estados Vaginales Básicos	92
4.10.2. Presencia de <i>Chlamydia trachomatis</i> en estados Vaginales Básicos	92
4.10.3. Presencia de Virus Papiloma Humano en estados Vaginales Básicos	93
4.11. Parámetros descriptivos de pruebas diagnósticas	93
5. DISCUSION.....	97
5.1. Característica de la población	99
5.2. Distribución de Estados Vaginales Básicos	99

5.3. Detección de levaduras	101
5.4. Detección de <i>Trichomonas vaginalis</i>	103
5.5. Detección de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	104
5.6. Detección de <i>Chlamydia trachomatis</i>	106
5.7. Detección del Virus Papiloma Humano	107
5.8. Asociación entre los Estados Vaginales Básicos y los diferentes agentes etiológicos.....	111
5.9. Parámetros descriptivos de pruebas diagnósticas	111
6. CONCLUSIONES.....	115
7. RECOMENDACIONES	119
8. BIBLIOGRAFÍA.....	123
9. ANEXOS	139
9.1. Anexo I. Planilla de Encuesta	141
9.2. Anexo II. Acuerdo Voluntario. Consentimiento Informado	142
9.3. Anexo III. Procedimientos de Diagnostico Molecular	143
9.4. Anexo IV. Patrones de RFLP de los HPVs Mucosotropicos	149

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1. Características de la población estudiada.....	80
Tabla N° 2. Frecuencia de Estados Vaginales Básicos en la población estudiada.....	81
Tabla N° 3. Frecuencia de Estados Vaginales Básicos en mujeres sintomáticas y asintomáticas	81
Tabla N° 4. Frecuencia de Estados Vaginales Básicos según síntomas y embarazo	82
Tabla N° 5. Respuesta inflamatoria vaginal (RIV) en mujeres según síntomas	82
Tabla N° 6. Respuesta inflamatoria vaginal (RIV) en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo	82
Tabla N° 7. Estados Vaginales Básicos II, IV y V vs I y III según síntomas	83
Tabla N° 8. Estados Vaginales Básicos II, IV y V vs I y III en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo	83
Tabla N° 9. Estado Vaginal Básico IV vs EVBs I, II, III y V según sintomatología	84

Tabla N° 10. Estado vaginal básico IV vs EVBs I, II, III y V en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo	84
Tabla N° 11. Estados Vaginales Básicos IV y V vs I, II y III según sintomatología ...	84
Tabla N° 12. Estados vaginales básicos IV y V vs I, II y III en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo	85
Tabla N° 13. Presencia de levaduras en sintomáticas y asintomáticas	85
Tabla N° 14. Prevalencia de levaduras en sintomáticas y asintomáticas, según estado gestacional.....	85
Tabla N° 15. Prevalencia de levaduras según estado gestacional y síntomas	86
Tabla N° 16. Distribución de levaduras según respuesta inflamatoria vaginal	86
Tabla N° 17. Distribución de levaduras y estados vaginales básicos	86
Tabla N° 18. Presencia de <i>Trichomonas vaginalis</i> en sintomáticas y asintomáticas.....	87
Tabla N° 19. Distribución de <i>Trichomonas vaginalis</i> en pacientes con respuesta inflamatoria vaginal.....	87
Tabla N° 20. Presencia de <i>Chlamydia trachomatis</i> en mujeres según síntomas	88
Tabla N° 21. Presencia de <i>Chlamydia trachomatis</i> en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo	88
Tabla N° 22. Distribución de <i>Chlamydia trachomatis</i> según rango de edad	88
Tabla N° 23. Distribución de <i>Chlamydia trachomatis</i> según rango de edad de inicio de relaciones sexuales.....	89
Tabla N° 24. Distribución de <i>Chlamydia trachomatis</i> según respuesta inflamatoria vaginal	89
Tabla N° 25. Presencia de HPV en mujeres sintomáticas y asintomáticas	89

Tabla N° 26. Presencia de HPV en mujeres en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo.....	90
Tabla N° 27. Prevalencia de HPV en relación con el número de parejas	90
Tabla N° 28. Distribución de HPV según rango de edad	90
Tabla N° 29. Distribución de HPV según rango de edad de inicio de relaciones sexuales	91
Tabla N° 30. Prevalencia de HPV según el número de embarazos.....	91
Tabla N° 31. Distribución de genotipos de HPV	91
Tabla N° 32. Estados Vaginales Básicos vs presencia de <i>Trichomonas vaginalis</i>	92
Tabla N° 33. Estados Vaginales Básicos vs presencia de <i>Chlamydia trachomatis</i>	92
Tabla N° 34. Estados Vaginales Básicos vs presencia de HPV.....	93
Tabla N° 35. Parámetros descriptores de la evaluación sintomática en la consulta médica para predecir Vaginosis Bacteriana	93
Tabla N° 36. Parámetros descriptores en los EVBs con RIV para predecir infección por <i>Trichomonas vaginalis</i>	94
Tabla N° 37. Parámetros descriptores en los EVBs con RIV en infección por <i>Chlamydia trachomatis</i>	94
Tabla N° 38. Parámetros descriptores en los EVBs alterados en infección por HPV.....	95
Tabla N° 39. Parámetros descriptores en los EVBs (adoptados) en sintomáticas.....	95
Tabla N° 40. Parámetros descriptores en los EVBs (adoptados) en asintomáticas.....	95

ABREVIATURAS

ADN: Acido Desoxirribonucleico

ARN: Acido Ribonucleico

ARNr: Acido Ribonucleico ribosomal

BACOVA: Balance del Contenido Vaginal

CDC: Centers Disease Control (Centros para el control de enfermedades)

CIN: Neoplasia intraepitelial cervical

FDC: Factor de desprendimiento celular

FP: Falso Positivo

FN: Falso Negativo

CE: Cuerpo Elemental

CR: Cuerpo Reticular

EIE: Enzimoinmunoensayo

EVB: Estado Vaginal Básico

HPV: Virus Papiloma Humano

HSV: Virus Herpes Simplex

IARC: Agencia Internacional de investigación del cancer

IFD: Inmunofluorescencia directa

IgA: Inmunoglobulina A

IgM: Inmunoglobulina M

IGD: Infeccion Gonocócica Diseminada

IPS: Instituto de Previsión Social

ITS: Infecciones Transmisibles Sexualmente

LGV: Linfogramuloma venéreo
LOS: Lipooligosacárido
LPG: Lipofosfoglucono
LPS: Lipopolisacárido
LR: Likelihood Ratios (Razones de verosimilitud)
MI: Microbiota Intermedia
MIF: Microinmunofluorescencia
MN: Microbiota Normal
MOMP: Proteína mayor de la membrana externa
Neg LR: Razones de verosimilitud negativo
pb: pares de bases
PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
pH: Potencial de Hidrógeno
PMO: Programa médico obligatorio
Pos LR: Razones de verosimilitud positivo
RFLP: Polimorfismo de la Longitud de los Fragmentos de Restricción
RIV: Reacción Inflamatoria Vaginal
RPM: Ruptura prematura de membranas
RR: Riesgo relativo
SDA: Amplificación por desplazamiento de hebras de ADN
SSCP: Polimorfismos conformacionales de cadena simple
TAAN: Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos
TMA: Amplificación mediada por transcripción
VB: Vaginositis Bacteriana
VMI: Vaginitis Microbiana Inespecífica
VN: Valor Numérico
VNe: Verdadero Negativo
VP: Verdadero Positivo
VPP: Valor predictivo positivo
VPN: Valor predictivo negativo

1

INTRODUCCIÓN



Costanera de la ciudad de Posadas (Misiones)

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Microbiota vaginal

La microbiota vaginal ha sido caracterizada para mujeres en diferentes estadios de su vida. Está influenciada notablemente por los estrógenos y su composición puede estar afectada por el momento del ciclo menstrual, la historia sexual, el método anticonceptivo usado, el procedimiento y sitio de la toma de muestra, entre otros factores. La microbiota vaginal es dinámica y compleja, pudiéndose producir variaciones día a día (Gager P. y col, 2012).

Con respecto a los cambios hormonales, al aumentar los estrógenos disminuye la proporción de bacterias anaerobias con excepción de los lactobacilos anaerobios. Los estrógenos provocan la acumulación de glucógeno en las células que revisten la vagina y los lactobacilos convierten el glucógeno en ácido láctico y el pH de la vagina se acidifica (Tortora G., 2007).

Los lactobacilos, en mujeres sanas en edad reproductiva, producen ácido láctico y peróxido de hidrógeno que dificultan la colonización o proliferación de otros microorganismos (*Gardnerella vaginalis*, anaerobios, estreptococos, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida* spp); el pH vaginal se encuentra entre 3,8 y 4,5. En la vagina de mujeres con vaginitis no específica están aumentados succinatos, propionatos y butiratos y disminuido el ácido láctico (Farinatti A. y col, 2013).

La composición de la microbiota vaginal varía con la edad de la mujer. En el útero, la vagina del feto es microbiológicamente estéril. Luego del nacimiento y hacia la sexta semana de vida, los estrógenos maternos están presentes en el epitelio de la vagina favoreciendo la microbiota de la vagina adulta, es decir predominan lactobacilos anaerobios facultativos. Después de que los estrógenos han sido metabolizados, la microbiota vaginal se modifica e incluye microorganismos de la piel, como *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Streptococcus spp*, y microorganismos fecales como *Escherichia coli*. (Murray P. y col, 2007). Después de la menarca, en la microbiota facultativa de la vagina sana predominan los lactobacilos y las formas difteroides, entre las cuales se incluye a *Gardnerella vaginalis*, también organismos Gram positivos como *Staphylococcus coagulasa negativa*, y *Streptococcus* alfa hemolíticos y no hemolíticos. La mayoría de las mujeres están colonizadas por organismos anaeróbicos como *Peptoestreptococcus*, *Prevotella bivia*, *Prevotella disiens*, *Porphyromonas spp* y *Mycoplasma spp*.

La microbiota vaginal representa uno de los factores más importantes que posee el tracto genital para enfrentar a los microorganismos patógenos. En ella Intervienen una serie de factores que permiten el establecimiento gradual de microorganismos que luego acompañarán a la mujer, en condiciones normales, durante toda la vida. (Farinatti A. y col, 2013).

Las especies bacterianas presentes en el contenido vaginal normal de la mujer adulta son numerosas y pueden llegar a identificarse aproximadamente 280 especies y entre éstas hasta 18 especies de lactobacilos (Gager P. y col, 2012). Las relaciones cuantitativas entre ellas están condicionadas por las modificaciones metabólicas que se generan en el epitelio vaginal alterado, esto se produce prioritariamente por deficiencias hormonales.

Cuadro N° 1: Microorganismos que constituyen la microbiota normal en mujeres en edad reproductiva.
Adaptado de Farinatti A., 2013.

Grupo	Microorganismo	Prevalencia
Bacilos grampositivos	<i>Lactobacillus</i> spp.	45-88%
	<i>Corynebacterium</i> spp.	14-72%
	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2-58%
Cocos grampositivos	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	34-92%
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1-32%
	<i>Streptococcus</i> grupo B	6-22%
	<i>Enterococcus</i> spp.	32-36%
	<i>Streptococcus</i> no hemolítico	14-33%
	<i>Streptococcus</i> alfa hemolítico	17-36%
Bacilos gramnegativos	<i>Escherichia coli</i>	0-22%
	Otros: <i>Proteus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>	0-58%
Mollicutes	<i>Mycoplasma hominis</i>	0-22%
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	0-58%
Levaduras		15-30%
Anaerobios		
Bacilos grampositivos	<i>Lactobacillus</i> spp.	10-43%
	<i>Eubacterium</i> spp.	0-7%
	<i>Bifidobacterium</i> spp.	8-10%
	<i>Propionibacterium</i> spp.	2-5%
	<i>Clostridium</i> spp.	4-17%
Cocos grampositivos	<i>Peptococcus</i>	76%
	<i>Peptostreptococcus</i>	56%
Bacilos gramnegativos	<i>Prevotella bivia</i>	34%
	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	18%
	<i>Bacteroides</i> grupo fragilis	0-13%
	<i>Fusobacterium</i> spp.	7-19%
Cocos gramnegativos		2-27%

El término microbioma se refiere al número total de microorganismos y su material genético y se usa en contraposición al término microbiota, que es la población microbiana presente en los diferentes ecosistemas del cuerpo (Khanna S., Tosh P.K., 2014). Esta definición fue adoptada por Joshua Lederberg, quien argumentó que los microorganismos que habitan el cuerpo humano podrían ser incluidos como parte del genoma humano.

El cuerpo humano contiene unas 10 veces más células de microbios que de células humanas. El microbioma humano es crucial para la salud y el bienestar (Cárdenas Guzmán G., 2012). Éste no ocupa simplemente un espacio en el cuerpo humano sino que es esencial para varios aspectos del desarrollo normal, a través de las interaccio-

nes con el sistema inmunológico de la mucosa.

Varios aspectos de la vida en la sociedad moderna, como el uso de antimicrobianos, el saneamiento, la vacunación y los cambios en la dieta tienen efectos profundos y duraderos sobre el microbioma humano (Khanna S., Tosh P.K., 2014).

Recientemente se ha incrementado la producción científica en relación con el microbioma humano. En los últimos 5 años se han publicado más del 90% de los casi 4.000 artículos sobre el tema, indexados por PubMed (Khanna S., Tosh P.K., 2014).

El microbioma vaginal es el menos estudiado hasta el momento. La influencia de numerosos factores como los hormonales, inmunológicos y la propia actividad sexual, posiblemente dificultan su exploración.

La complejidad de la vagina humana hace que su microbioma cambie en periodos cortos de tiempo, sea diferente de una mujer a otra y varíe en respuesta a las relaciones sexuales. (Gager P. y col, 2012; Witkin S., 2012). Estos cambios hacen pensar que el riesgo de infección y el de llegar a contraer enfermedades en una mujer pueden variar mucho a lo largo de los años (Gager P. y col, 2012).

Las secreciones vaginales normales son una suspensión heterogénea de células epiteliales vaginales y lactobacilos en un líquido que procede del cuello uterino y de las paredes vaginales (McCormack W., 2006).

Una de las manifestaciones de alteración en el contenido vaginal de la mujer es el aumento de secreción vaginal. Es necesario establecer si ese aumento de la secreción corresponde a un estado fisiológico o patológico. Dentro de esta última categoría también hay que precisar si es o no de origen infeccioso (Farinatti A. y col, 2013).

Los síntomas genitourinarios de las mujeres suelen ser inespecíficos. Por ejemplo, todas las mujeres presentan secreción vaginal, pero su capacidad para distinguir la secreción normal de la anormal a menudo es imprecisa.

1.2. Infecciones del tracto genital inferior

Se puede clasificar a las patologías infecciosas de tracto genital inferior según su origen en endógenas y exógenas.

Las Infecciones endógenas son aquellas cuyo origen se encuentra dentro de los componentes de la microbiota habitual o son fruto de su desequilibrio. Entre éstas encontramos:

- Candidiasis vulvovaginal
- Vaginosis bacteriana
- Vaginitis por *Streptococcus agalactiae*

Infecciones exógenas son aquellas provocadas por microorganismos que no forman parte de la microbiota habitual. Entre éstas están las infecciones de transmisión sexual (ITS). Se destacan los siguientes agentes patógenos: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Trichomonas vaginalis*, Herpes, Virus del papiloma humano, *Molluscum contagiosum*, entre otros. (Farinatti A. y col, 2013).

1.3. Disfunción Vaginal

La alteración de la composición de la microbiota vaginal, y por ende su disfunción, puede ocasionar, desde un alto porcentaje de casos asintomáticos a estados patológicos que afectan la calidad de vida de la mujer que la padece (Fosch S. y col, 2006).

Los signos y síntomas compatibles con disfunción vaginal más frecuentes son: prurito, ardor, irritación, mal olor, secreción vaginal anormal, disuria, dispareunia y dolor en la región pélvica.

El flujo vaginal anormal es el síntoma más frecuente de la mujer en edad reproductiva y constituye uno de los principales motivos de consultas ginecológicas (Ventolini G., 2013).

La disfunción vaginal en mujeres, sintomáticas y asintomáticas, está asociada a un incremento significativo del riesgo de adquirir infecciones transmisibles sexualmente como así también al probable desarrollo de patologías gestacionales como ser: aborto, parto prematuro e infecciones materno/neonatales.

En muchas ocasiones en mujeres con disfunciones vaginales se realiza un diagnóstico sindrómico de vaginitis y vaginosis, que no alcanza a superar el 50% del valor predictivo positivo y negativo (Manual de procedimientos BACOVA. MPB-2011).

En la República Argentina aproximadamente dos millones de mujeres en edad reproductiva son afectadas diariamente por la disfunción vaginal, según estudios realizados en diferentes regiones sanitarias del país (Manual de procedimientos BACOVA. MPB-2011).

1.3.1. Definición del Balance del Contenido Vaginal (BACOVA)

BACOVA es el estudio morfológico integral del contenido vaginal. En base al examen en fresco, tinción de Gram y de Giemsa, se evalúa la presencia de 3 morfotipos bacterianos: lactobacilos, bacilos cortos Gram variables y bacilos Gram negativos curvos, todos miembros de la microbiota vaginal habitual.

De acuerdo a la relación cuantitativa entre el número de lactobacilos y el resto de los microorganismos que componen la microbiota habitual se obtiene un Valor Numérico (VN) que va de 0 a 10.

VN 0 a 3: Equilibrio normal de la microbiota vaginal. Se considera estado normal de la función vaginal.

VN 4 a 6: Microbiota con cambios intermedios. Refiere a algún grado de alteración sistémica en el control del balance del contenido vaginal.

VN 7 a 10: Microbiota alterada. Desequilibrio manifiesto, con disminución o ausencia de lactobacilos y aumento significativo de la microbiota habitual vaginal, fundamentalmente anaerobia (Manual de procedimientos BACOVA. MPB-2011).

El BACOVA permite además detectar morfotipos bacterianos extraños al contenido vaginal y células epiteliales no habituales.

La respuesta inflamatoria vaginal (RIV) indica la cantidad de leucocitos presentes en el contenido vaginal. Los puntos de corte para identificar la RIV varían según la

metodología utilizada. En el examen en fresco es 10 leucocitos por campo (400X), en el extendido de Gram, 5 leucocitos por campo (1000X) y en la tinción de Giemsa es 1 leucocito por célula epitelial y por campo (400X).

La combinación de estos dos criterios: el valor numérico y la respuesta inflamatoria vaginal permite establecer 5 estados vaginales básicos (EVB).

EVBI: Microbiota Normal (MN)

EVBI: Microbiota Normal con reacción inflamatoria significativa (MN+RIV)

EVBI: Microbiota Intermedia (MI)

EVBI: Vaginosis Bacteriana (VB)

EVBI: Vaginitis Microbiana Inespecífica (VMI)

1.3.2. Interpretación clínica de los estados vaginales básicos

1.3.2.1. EVBI: Microbiota Normal (MN)

Se observa una mayoría de lactobacilos sobre el resto de morfotipos bacterianos habituales. No se evidencia respuesta inflamatoria.

El estado de normalidad de la función vaginal, va acompañado de pH normal (pH 4,5) y ausencia del olor a aminas. Sin embargo hay casos en los que se detecta una elevación del pH, sin ningún otro criterio de anormalidad.

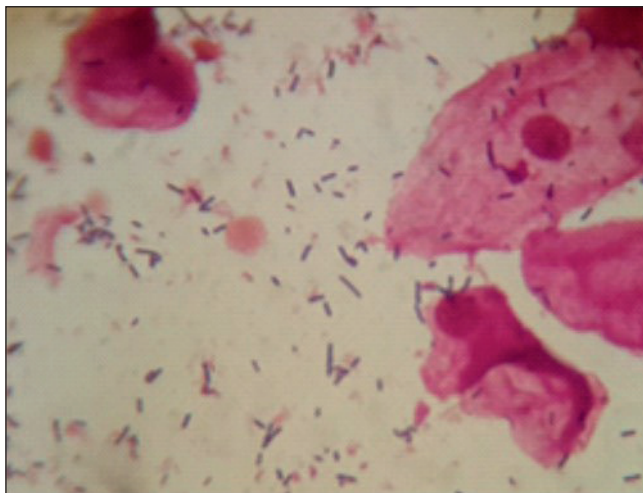


Figura 1: Microbiota normal

Fuente: propia.

1.3.2.2. EVBI: Microbiota normal con reacción inflamatoria significativa (MN+RIV)

Se observa una mayoría manifiesta de lactobacilos sobre el resto de morfotipos bacterianos habituales, lo que genera un VN de 0 a 3, pero existe una respuesta inflamatoria vaginal, indicada por el aumento significativo del número de leucocitos en el contenido vaginal.

Este estado funcional requiere inmediata consideración por su alto riesgo, sobre todo en el embarazo. Se debe medir el pH vaginal.

Si el pH vaginal es normal y se detecta la presencia de levaduras (independiente del estado morfológico de éstas) orienta a una vaginitis por levaduras.

En caso de pH elevado, la posibilidad de vulvovaginitis por levadura (VVL) disminuye significativamente y se debe investigar cervicitis y/o infección del tracto genital superior o eventual infección urinaria.

En caso de pH elevado también es posible la presencia de *Trichomonas vaginalis*.

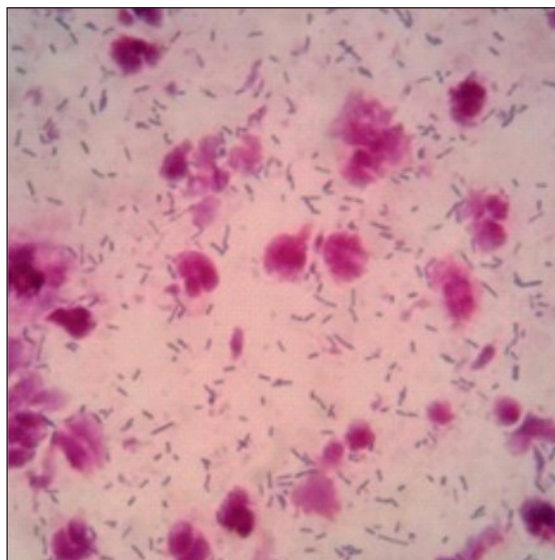


Figura 2: Microbiota normal + RIV

Fuente: propia

1.3.2.3. EVB III: Microbiota Intermedia (MI)

El contenido vaginal muestra una disminución de lactobacilos y un aumento relativo de morfotipos bacterianos correspondientes a especies principalmente anaeróbicas. Se expresa en el informe con VN entre 4 y 6. En este estado no se evidencia respuesta inflamatoria vaginal.

En realidad indica un estado evolutivo impredecible, en el que la mujer está recuperando el estado normal, avanza hacia un estado de Vaginosis Bacteriana o mantiene un estado intermedio de desbalance crónico.

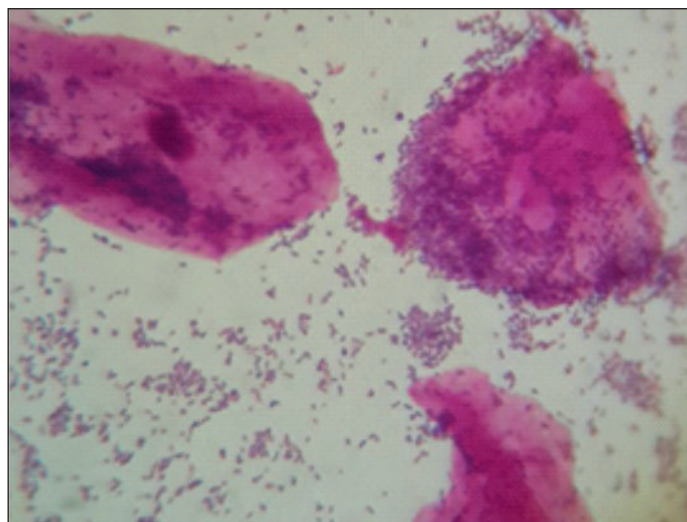


Figura 3: Microbiota intermedia

Fuente: propia

La presencia de células guía (células de bordes indefinidos con gran cantidad de bacilos o cocobacilos adosados a sus paredes) en general orienta a un estado progresivo a Vaginosis Bacteriana. De hecho su presencia determina la suma de dos puntos al VN real obtenido.

El pH puede o no estar alterado, y puede detectarse o no el olor a aminas.

1.3.2.4. EVB IV: Vaginosis Bacteriana (VB)

Este estado del contenido vaginal corresponde a la Vaginosis Bacteriana típica. Se observa predominio casi absoluto de morfotipos bacterianos correspondientes a especies habituales de la vagina (principalmente anaeróbicas) y ausencia de lactobacilos. El informe se expresa con un VN de 7 a 10 y ausencia de RIV.

Hasta el presente no ha podido asignarse etiología infecciosa al EVB de Vaginosis Bacteriana, por lo que carecen de sentido los estudios mediante cultivos convencionales de agentes microbianos específicos, para el diagnóstico y/o seguimiento de esta patología. (Manual de procedimientos BACOVA. MPB-2011)

El pH normal prácticamente descarta este EVB (Tilli M. y col, 2005), en la mayoría de los casos es mayor a 4,5 al igual que en Microbiota Intermedia y Vaginitis Microbiana Inespecífica.

El estudio de BACOVA no requiere la determinación del pH y/u olor a aminas para definir el EVB de Vaginosis Bacteriana. Existen casos en mujeres oligo o asintomáticas en las que se detecta morfológicamente un estado de Vaginosis Bacteriana, sin alteración de ambos criterios.

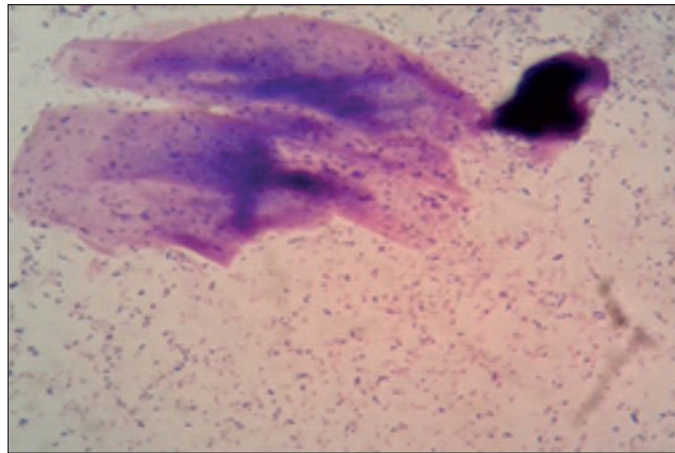


Figura 4: Vaginosis Bacteriana

Fuente: propia

1.3.2.5. EVB V: Vaginitis Microbiana Inespecífica (VMI)

Se incluyen en este EVB, aquellos casos que muestran una alteración de la relación de lactobacilos y el resto de la microbiota habitual vaginal. Comprende la gama de VN entre 4 a 10, acompañado de RIV significativa.

Se pueden encontrar agentes microbianos habituales de otros nichos (intestino, boca, piel, ambiente) colonizando el ambiente vaginal. Es muy difícil atribuir etiología en estos casos.

Es imprescindible considerar que la RIV detectada, puede tener origen en el epitelio vaginal (vaginitis convencionales) o responder a infecciones en otros niveles del tracto genital o urinario.

El desbalance de la microbiota habitual genera un alto riesgo de adquisición de todas la ITS incluyendo mayor frecuencia de asociación con *Trichomonas vaginalis* (Perazzi B. y col, 2007).

El pH es elevado en prácticamente la totalidad de los casos. No siempre el olor a aminas está presente.

1.3.3. Vaginosis Bacteriana

La Vaginosis bacteriana es un síndrome clínico asociado a una disminución en la cantidad de lactobacilos y a un aumento de microorganismos como *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* spp, *Prevotella* spp, *Mobiluncus* spp, *Mycoplasma* spp y *Ureaplasma* spp. A pesar de la carga microbiana incrementada, no se observa respuesta inflamatoria local. (Fosch S. y col, 2006). La concentración total de bacterias en el ambiente vaginal de mujeres con vaginosis puede ser de 100 a 1.000 veces mayor a los niveles de mujeres sin vaginosis. (Allsworth J. y Peipert J., 2007).

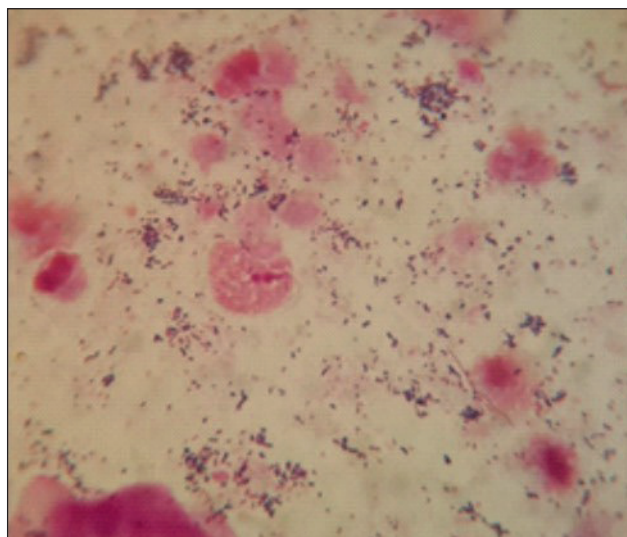


Figura 5: Vaginitis microbiana inespecífica

Fuente: propia

La etiología de la vaginosis no está definitivamente aclarada (Guía Práctica Integral de Diagnostico de Vaginosis-vaginitis Actualización 2012, Marazzo J.M., 2006). Entre otros factores metabólicos, existe acuerdo en reconocer un desequilibrio sistémico de los estrógenos como etapa previa a las alteraciones en las funciones sexual y reproductora de la vagina (Guía Práctica Integral de Diagnostico de Vaginosis-vaginitis Actualización 2012; Farinatti A. y col, 2013)

Recientemente, el empleo de la reacción en cadena de la polimerasa y la secuenciación de genes 16S ARNr ha demostrado una elevada prevalencia de bacterias de especies como *Atopobium*, *Leptotrichia*, *Sneathia*, *Porphyromonas*, *Gardnerella vaginalis* y nuevos miembros del orden *Clostridiales* referidos como bacterias asociadas a la vaginosis bacteriana. No está claro si estas especies están relacionadas causal o fortuitamente con la vaginosis bacteriana (Ventolini G., 2013).

En los últimos años se ha avanzado en el estudio de los componentes de la reacción inflamatoria innata (interleuquinas) asociada al desarrollo de vaginosis bacteriana. (Manual de procedimientos BACOVA. MPB-2011).

Las mujeres con vaginosis bacteriana tienen mayor riesgo de adquirir infecciones de transmisión sexual, incluyendo tricomoniasis, gonorrea, clamidiasis, sífilis, infección por herpes, VIH, entre otros. Además se incrementa el riesgo de daño ginecológico en mujeres de edad fértil, incluyendo enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), infecciones postoperatorias ginecológicas, aborto espontáneo, parto prematuro y endometritis postparto.

Muchas mujeres con vaginosis bacteriana son asintomáticas. Los dos síntomas clásicos de la vaginosis bacteriana, descarga vaginal y olor, se suelen presentar sólo en una minoría de mujeres afectadas. En un estudio realizado en Estados Unidos, se encontró que, en mujeres con vaginosis bacteriana, sólo el 25% refirió olor y el 42% informó descarga en los 6 meses anteriores (Allsworth J. y Peipert J., 2007).

1.3.4. Vaginitis convencionales

La vaginitis es un proceso inflamatorio de la mucosa vaginal que por lo general suele acompañarse de un aumento en la secreción vaginal. Puede ocurrir con o sin alteración de la microbiota habitual. La etiología más frecuente de este tipo de inflamación es la infecciosa y los síntomas más frecuentes son el aumento de la secreción o flujo vaginal intenso (leucorrea) y el prurito genital.

Las vaginitis convencionales detectadas por BACOVA son dos: la vulvovaginitis por levaduras y la vaginitis asociada a *Trichomonas vaginalis*, en ambos casos contribuye con un 75% de valor predictivo positivo. El valor predictivo negativo es muy bajo (Guía Práctica Integral de Diagnostico de Vaginosis-vaginitis Actualización 2012).

1.3.4.1. Vulvovaginitis por levaduras

Es el estado inflamatorio vaginal y/o vulvovaginal, inducido por levaduras. Están involucradas varias especies del género *Candida*, con predominio de *Candida albicans*. En el caso de vulvovaginitis por levaduras (VVL) típica, el pH del contenido vaginal es normal y el balance de lactobacilos y la microbiota anaeróbica también se mantiene normal. La VVL se asocia significativamente con el EVB II (VN 0 a 3 y RIV significativa).

El factor clave a considerar en la patogénesis de candidiasis vaginal, es que de ser un microorganismo comensal puede evolucionar a agente causal de vulvovaginitis, con cuadros excepcionales invasivos o diseminados, en cuyos casos sigue la misma vía de infección que cualquier otro microorganismo: colonización y adhesión de *C. albicans* a la piel o mucosa, penetración de la mucosa y barrera epitelial, infección local y diseminación.

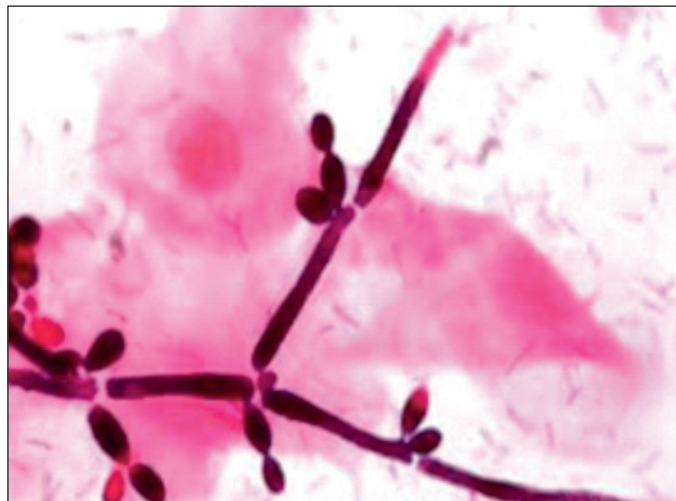


Figura 6: Levadura y pseudomicelio

Fuente: (<http://www.microbelibrary.org/>)

El cuadro clínico es bastante característico, siendo los síntomas principales prurito y ardor vaginal, los que se pueden exacerbar posteriormente a la actividad sexual o durante la micción. Los hallazgos clínicos incluyen edema y eritema de vestíbulo, labios mayores y menores, con la presencia de flujo vaginal blanco, sin olor, espeso,

similar a leche cortada o cuajada, que se desprende en forma fácil de las paredes vaginales (Nyirjesy P., 2008).

Las levaduras son integrantes habituales de la microbiota bucal, intestinal, de piel y de vagina. La presencia de levaduras en el contenido vaginal, puede ser detectada por morfología, cultivo y/o amplificación génica, esto resulta una condición necesaria pero no suficiente para el diagnóstico de VVL. En este cuadro clínico, independientemente de los síntomas y signos, es necesario priorizar la presencia de RIV y la observación de cambios morfológicos de las levaduras, como por ejemplo, la formación de pseudohifas.

Existe evidencia de que la agresión de levaduras al epitelio y la piel de la región vagino-vulvar, se produce por una alteración sistémica (inmunohormonal) de la paciente y no necesariamente por un factor de virulencia específico de la levadura participante. Estudios recientes indican que los cambios en los receptores de las células epiteliales, facilitarían la adherencia de las levaduras y los cambios morfológicos de las mismas. Esto induciría el estado inflamatorio posterior (Guía Práctica Integral de diagnóstico de vaginosis- vaginitis en la atención primaria de la mujer en edad fértil. Actualización 2011).

Estas alteraciones inmunohormonales que condicionan la vulvovaginitis son diferentes de las que generan Vaginosis Bacteriana. Existe evidencia de la participación de factores de estrés psicológico en la sensibilidad de la mujer a las vulvovaginitis por levaduras recidivantes (Fidel J.R., Sobel J.D. ,1996).

El BACOVA considera significativa la presencia de las levaduras en el contenido vaginal, cuando está acompañada de RIV. El diagnóstico se refuerza si hay cambios morfológicos. La asociación de levaduras con el EVB de Vaginosis Bacteriana es mínima o nula.

1.3.4.2. Vaginitis por *Trichomonas vaginalis*

La presencia de tricomonas determinada por morfología, cultivo y/o amplificación génica, se observa generalmente en los EVB IV y V. En este último estado vaginal, se manifiesta con una RIV significativa y un pH elevado.

En un número reducido de pacientes con tricomoniasis no se detecta RIV. Por otra parte, la infección por *T. vaginalis* puede detectarse en mujeres asintomáticas.

A diferencia de las consideraciones referidas a levaduras, en el caso de tricomonas, independientemente de la RIV y/o los síntomas, por su carácter de ITS, se indica tratamiento inmediato y se procede a investigar otros gérmenes asociados a infecciones transmitidas sexualmente.



Figura 7: *Trichomonas vaginalis*

Fuente: (<http://www.cdc.gov/std/spanish/tricomoniasis/stdfact-trichomoniasis-s.htm>)

1.4. Agentes virales y bacterianos asociados a infecciones de transmisión sexual

1.4.1. *Trichomonas vaginalis*

Trichomonas vaginalis es un protozoo móvil flagelado que se transmite fundamentalmente por contacto sexual. Los seres humanos son el único huésped natural. Infecta principalmente el epitelio escamoso del tracto urogenital, la vagina, la uretra y las glándulas parauretrales. Otras localizaciones menos comunes incluyen el cuello del útero, la vejiga, las glándulas de Bartholino y la próstata. La tricomoniasis es una de las principales causas de síntomas vaginales y supone el 20% de todas las vulvovaginitis, siendo la tercera causa más común (Anderson M. y col, 2004).

1.4.1.1. Epidemiología

La tricomoniasis es la infección de transmisión sexual (ITS) parasitaria más extendida en el mundo, con una incidencia de 276,4 millones de infectados nuevos por año (OMS, 2012); sin embargo, este dato puede no corresponder a la realidad porque la enfermedad no es de reporte obligatorio, además de tener un curso silente en muchos hospedadores (Hernández Álvarez H. y col, 2009, Ovalle A. y col, 2012).

Predomina en mujeres en edad fértil, con un pico entre los 16 y 35 años, grupo etario en el que se estima que entre el 10% y el 30% están infectadas.

1.4.1.2. Biología y morfología

El trofozoíto es la forma usual e infectante del parásito. No se han descrito formas quísticas, sin embargo, en situaciones desfavorables, *T. vaginalis* puede interiorizar sus flagelos y adoptar una configuración de pseudoquiste. Mide de 7 a 23 μm con una media de 13 μm . Puede presentar diferentes aspectos: en cultivos *in vitro* se puede observar como ovoide o piriforme; por el contrario, tras la adherencia a las células del epitelio genital tiende a adoptar una morfología ameboide.

Posee cinco flagelos, cuatro de ellos anteriores y uno posterior, cuya función es conferirle sus movimientos rápidos de traslación y rotación característicos. Los cuatro flagelos anteriores nacen en el blefaroplasto. El quinto flagelo está formado por un citoesqueleto de actina y tubulina y proporciona un movimiento ondulante.

Debajo del núcleo nace una parte rígida, llamada axostilo, dispuesta longitudinalmente y análoga a la columna vertebral, que le proporciona rigidez anatómica al protozoo. *T. vaginalis* no posee mitocondrias y sus hidrogenosomas son los encargados de producir el hidrógeno molecular mediante la fermentación de carbohidratos (Ospina Díaz J. y Ariza Riaño N., 2008).

1.4.1.3. Patogenia

El pH alcalino es ideal para que *T. vaginalis* produzca la infección. Los mecanismos de patogenidad de *T. vaginalis* son de dos clases: los dependientes y los independientes del contacto.

MECANISMOS DEPENDIENTES DEL CONTACTO: unión entre el parásito y la célula epitelial. La adherencia del parásito a la célula está mediada por las siguientes proteínas de unión presentes en *T. vaginalis*: AP120, AP65 (esta proteína genera la respuesta inmune porque está presente en gran parte de la membrana del protozoo), AP51, AP33 y AP23 (Lee H-Y. y col, 2011).

Tras la adherencia, *T. vaginalis* adopta una forma ameboide que aumenta su contacto con la célula. Para que la adherencia sea eficaz, es necesaria la presencia de cisteína-proteinasas ubicadas en la superficie del parásito. Se conocen 11 de estas enzimas que intervienen en el proceso y una de ellas está involucrada en la apoptosis de la célula epitelial. El parásito finalmente se une a la laminina y la fibronectina del epitelio vaginal. Además, *T. vaginalis* está recubierta por lipofosfoglicano (LPG), molécula muy importante para su adherencia a la célula epitelial.

MECANISMOS INDEPENDIENTES DEL CONTACTO: intervienen el factor de desprendimiento celular (FDC), los desechos del parásito y la disminución de la concentración de estradiol en la vagina. Cuando el FDC interactúa con la célula epitelial, induce su desprendimiento. Se acepta que el FDC es un marcador de virulencia porque al elevarse su concentración aumenta la sintomatología. Durante la menstruación el déficit de estrógenos aumenta la concentración de FDC y da lugar a una exacerbación de la sintomatología.

El transporte del parásito entre las mucosas en el acto sexual se hace mediante las secreciones de quienes participan en él como el flujo vaginal, el líquido preseminal y el semen. Una vez que el parásito invade la mucosa genital, tiene preferencia por

localizarse, en el caso de la mujer, en las glándulas de Bartholino y parauretrales y en sus secreciones, además de la vagina y el cérvix. En el hombre coloniza principalmente el surco balano-prepucial, las glándulas prepuciales, la uretra prostática y las vesículas seminales.

Una vez que el trofozoíto se encuentra en la mucosa, se reproduce mediante fisión binaria longitudinal con un período de incubación que oscila entre 4 y 28 días, y crece con la presencia de sales de hierro, como las que se encuentran en la sangre menstrual, y de la glucosa, presente en el epitelio vaginal durante la edad fértil.

1.4.1.4. Aspectos clínicos

Las mujeres con vaginitis típicamente presentan uno o más de los siguientes síntomas: descarga vaginal aumentada, prurito, ardor, irritación, eritema, dispareunia y disuria.

El flujo vaginal anormal o leucorrea es el síntoma más frecuente en las vaginitis. Esta secreción fisiológica se forma por las secreciones endocervicales mucoides en combinación con el desprendimiento de las células epiteliales, la flora vaginal normal y el trasudado vaginal.

La gravedad de los síntomas se correlaciona con el grado de inflamación. Así, la vulvovaginitis candidiásica a menudo se presenta con síntomas inflamatorios marcados (prurito y dolor), pero la secreción es escasa (espesa, blanca, como leche cuajada). Por el contrario, la vaginosis bacteriana se asocia con una mínima inflamación y con síntomas irritativos mínimos, pero el exudado es gris o amarillo y maloliente, siendo éste último el motivo de consulta habitual. Por último, la tricomoniasis se caracteriza por secreción purulenta y de mal olor, que puede estar acompañada de ardor, prurito y aumento de la frecuencia miccional.

Sin embargo, ninguno de los hallazgos de la historia clínica permite un diagnóstico definitivo, ya que existe un solapamiento considerable entre los síntomas de las diferentes etiologías de vaginitis (Anderson M. y col, 2004).

1.4.1.5. Diagnóstico

En el caso de la mujer, la muestra de elección para la búsqueda del parásito es el fluido vaginal, mientras que en el hombre lo es el semen, por su mayor sensibilidad, aunque los métodos diagnósticos para este grupo son más limitados. El método más apropiado, debido a su sensibilidad (98%) y especificidad (100%), es el cultivo en los caldos de Roiron y de Diamond. Para evitar el crecimiento de otros microorganismos se añaden al caldo antibióticos y fungicidas (Bachmann L. y col, 2011).

Se considera que el examen microscópico directo es la técnica más económica, rápida y fácil de llevar a cabo cuando se utiliza en orina (primer chorro) o en muestras de exudado vaginal o uretra; el rendimiento de esta prueba depende del entrenamiento de la persona encargada de hacerla, y se debe realizar idealmente en las primeras dos horas de obtenida la muestra, pues *T. vaginalis* pierde movilidad conforme pasa el tiempo, dificultando así su reconocimiento (Aznar J, y col, 2007).

Contribuyen al diagnóstico, junto al examen microscópico, la determinación del pH del flujo vaginal mediante tiras reactivas, combinado con el test de las aminas. También es útil la tinción de Papanicolaou, pero tiene baja sensibilidad (Omer E. y col, 1988).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha dado resultados satisfactorios en secreción vaginal y orina, con altas sensibilidad y especificidad (Santos Diéguez I., 2014).

Las técnicas inmunológicas clásicas de EIE e IFD (inmunofluorescencia directa) tienen menor sensibilidad que el cultivo o que las técnicas moleculares como la PCR, por lo que son poco usadas, pero son una opción más para el diagnóstico de la infección. La prueba de EIE basada en la búsqueda de IgA, IgM e IgG específicas para *trichomonas* no ha sido eficaz (Mason P., y col, 2001).

1.4.1.6. Tratamiento

El tratamiento actual se basa en los fármacos de la familia de los nitroimidazoles, que se dividen en dos grupos: los 2-nitroimidazoles, que incluyen el misonidazol y el benznidazol, y los 5-nitroimidazoles, que incluyen los siguientes: metronidazol, tinidazol, ornidazol, secnidazol, carnidazol, nimorazol y satranidazol.

El metronidazol, que tiene una amplia actividad antimicrobiana, es la droga de elección, 2 gr en dosis única por vía oral, o alternativamente 500 mg 2 veces al día durante 7 días.

1.4.2. *Chlamydia trachomatis*

1.4.2.1. Definición y clasificación taxonómica

Chlamydia trachomatis es una bacteria intracelular perteneciente al orden *Chlamydiales*, que está integrado por un conjunto de familias, géneros y especies que comparten un ciclo único de persistencia en el ambiente natural. Estas bacterias son ubicuas y pueden infectar tanto a vertebrados superiores e inferiores como invertebrados y protozoarios (Rodríguez Fermepin M. y Entrocassi A.C., 2006).

1.4.2.2 Epidemiología

C. trachomatis es la bacteria más prevalente en las infecciones transmisibles sexualmente (ITS) en todo el mundo, con una estimación de 105.7 millones de casos nuevos en adultos en el 2008 según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2012), presentando un aumento de 4,1% de acuerdo a lo estimado en 2005 (101.5 millones).

Los estudios de tamizaje realizados de forma periódica muestran una mayor prevalencia de infecciones por *C. trachomatis* en la adolescencia, más precisamente en el período inmediatamente posterior al inicio de las relaciones sexuales (Franzini L. y col, 2004; Burstein G.R. y col, 1998). La prevalencia en mujeres adolescentes sintomáticas y asintomáticas del Reino Unido alcanza 10,3% y 13,35% en hombres menores de 25 años (La Montagne D.S. y col, 2004).

1.4.2.3 Ciclo de vida del género *Chlamydia*

Las clamidias son bacterias intracelulares obligadas. Presentan similitudes morfológicas y estructurales con las bacterias Gram negativas, ya que presentan una membrana externa separada de la membrana citoplasmática por un espacio periplásmico y el lipopolisacárido (Stamm W. y col, 2006, Darville T., 2013).

Su ciclo de vida incluye dos estadios: el cuerpo reticulado, que es la forma intracelular, replicativa y metabólicamente activa y el cuerpo elemental que es la forma infecciosa, extracelular y metabólicamente inactiva (Joklik W., 1998; Murray P. y col, 2007).

El ciclo comienza cuando un cuerpo elemental (CE) se une a la célula epitelial susceptible de la conjuntiva, aparato respiratorio, gastrointestinal o urogenital, seguido de la entrada por endocitosis (Darville T., 2013; Joklik W., 1998).

Una vez en el interior de la célula, la vacuola endocítica evade la fusión con los lisosomas, por lo tanto, no es degradada. Posteriormente este cuerpo compacto y pequeño (200-400nm) que es el CE evoluciona a una forma laxa: el cuerpo reticulado (CR) de 500 a 800 nm. La vacuola donde se desarrolla este proceso recibe el nombre de inclusión (Rodríguez Fermepin M. y Entrocassi A.C., 2006).

El CR desarrolla su actividad metabólica en el ambiente interno de la inclusión. Se divide por fisión binaria y genera un crecimiento exponencial. Este crecimiento incrementa el tamaño de la inclusión hasta ocupar la mayor parte del citoplasma, desplazando al núcleo hacia la periferia celular (Rodríguez Fermepin M. y Entrocassi A.C., 2006).

Solo algunos CR evolucionan a CE durante las etapas evolutivas del ciclo de replicación. Cuando se logra un número máximo de CR, esto asociado probablemente a la disponibilidad de nutrientes u otros factores fisicoquímicos, se observa la maduración a CE. La membrana de inclusión puede entonces fusionarse con la membrana plasmática del hospedador y liberar clamidias, o la célula hospedadora agotada de nutrientes y energía puede sufrir lisis. Los CE liberados pueden, entonces, recomenzar el ciclo (Darville T., 2013).

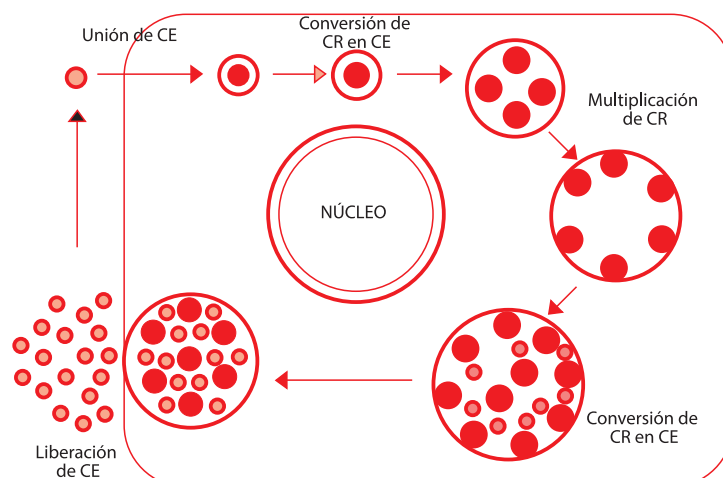


Figura 8: Ciclo de desarrollo de *Chlamydia trachomatis*. CR: cuerpo reticulado. CE: cuerpo elemental.

1.4.2.4. Estructura de *Chlamydia trachomatis*

La morfología varía según el estadio polar en que se encuentra: CE, CR o estadios intermedios dinámicos.

El cuerpo elemental tiene un tamaño aproximado entre 200 y 400 nm. El cuerpo reticulado es pleomórfico, de mayor tamaño que el CE (500-800nm). Las inclusiones de *C. trachomatis* almacenan glucógeno en la gran mayoría de las cepas estudiadas. Este hecho las diferencia de otras especies de clamidias (Rodríguez Fermepin M. y Entrocassi A.C., 2006).

C. trachomatis posee un plásmido críptico cuya función es aún desconocida y es el blanco preferido para la detección de *C. trachomatis* mediante técnicas de amplificación de ácido nucleico, reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las cepas de *C. trachomatis* presentan entre cuatro y diez copias de plásmido críptico de 7493 pb, con información para ocho proteínas. Este plásmido no confiere resistencia antibiótica y sólo una de sus proteínas es inmunogénica. Excepcionalmente hay cepas que carecen del plásmido, por lo tanto, el mismo no sería indispensable para su viabilidad. (Rodríguez Fermepin M. y Entrocassi A.C., 2006; Cuffini C. y col., 2012). Esto hace posible estar en presencia de falsos negativos cuando la PCR de plásmido críptico es el único blanco utilizado (Monetti M. y col., 2013).

Estructuras antigénicas principales

Todas las cepas estudiadas de la familia *Chlamydiaceae* presentan el mismo lipopolisacárido (LPS).

Esta estructura está formada por una porción lipídica de menor toxicidad que otras endotoxinas bacterianas, una región polisacárida escasa o nula, y un core o núcleo compuesto por una cadena corta de tres unidades de 2-ceto-3-desoxioctanoico (KDO). Este LPS de clamidias produce respuesta inmunológica y los anticuerpos contra el mismo pueden ser detectados por técnicas tales como: fijación del complemento, ELISA e inmunofluorescencia (Rodríguez Fermepin M. y Entrocassi A.C., 2006).

Otra estructura importante de la membrana externa es la MOMP (del inglés, Major Outer Membrane Protein), para la cual se postula una función de porina en los CR. Ésta representa el 60% de las proteínas de membrana externa de *C. trachomatis* y es fundamental en el mantenimiento de la rigidez del CE, tiene un peso molecular de 40 kDa y está codificada por el gen *ompA* (Cervantes E., 2009; Frohlich y col., 2014).

La MOMP presenta cuatro regiones variables V1, V2, V3 y V4 expuestas en la superficie celular, donde se encuentran epitopes específicos de género, especie y tipo. Mediante microinmunofluorescencia (MIF), utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra la MOMP, se pueden diferenciar las especies de clamidias. En el caso particular de *C. trachomatis*, se la puede clasificar en sus diferentes serotipos.

1.4.2.5. Biodiversidad de *Chlamydia trachomatis*

C. trachomatis ha sido clasificada en tres biotipos: el biotipo de la neumonía murina (cepa MoPn) actualmente separado como especie diferente (*C. muridarum*) y los

biotipos LGV (Linfogranuloma venéreo) y TRIC (tracoma, conjuntivitis de inclusión). A su vez los biotipos LGV y TRIC pueden dividirse en 18 serotipos, que concuerdan con la clasificación en genotipos basada en la diversidad de la secuencia del gen *ompA*. (Murray P. y col, 2007).

Los distintos serotipos de *C. trachomatis* tienen una marcada especificidad en lo que respecta al tropismo celular. El tracoma ocular es producido por los serotipos A, B, Ba, y C. Por otra parte los serotipos D a K son patógenos de las células epiteliales columnares del tracto genital, y son responsables de las infecciones genitales y de la conjuntivitis del adulto. En el recién nacido de una madre infectada pueden ocasionar conjuntivitis (*ophthalmia neonatorum*) y/o neumonía intersticial bilateral.

El biotipo LGV se divide en 4 serovares L_1 , L_2 , L_{2a} y L_3 , los cuales producen el Linfogranuloma venéreo. (Gallo Vaulet y col., 2010; Kuo y col., 2011).

1.4.2.6. Aspectos clínicos

Las clamidias constituyen la causa bacteriana más frecuente de las infecciones de transmisión sexual, que se manifiestan como cervicitis y uretritis (Darville T., 2013), aunque un número muy importante de mujeres sólo cursan infecciones asintomáticas (Cervantes E., 2009; Farinati A. y col, 2008).

La cervicitis por clamidias puede conducir a trastornos patológicos en las trompas de Falopio, los ovarios y la cavidad peritoneal, definido en su conjunto como enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) pudiendo llevar a consecuencias graves como infertilidad, embarazos ectópicos y dolor pelviano crónico. Se la ha asociado con abortos repetidos, rotura prematura de membranas y en casos de transmisión perinatal, el recién nacido padece riesgo aumentado de mortalidad. *C. trachomatis* puede ser, además, responsable de conjuntivitis y neumonía en el recién nacido (Jain S. 1999; Valencia C. y col, 2000).

En las mujeres infectadas el endocérnix a veces se muestra enrojecido y friable, con un exudado mucoide menos purulento que el observado para *N. gonorrhoeae*.

En los varones puede existir una cantidad escasa de exudado uretral mucoide, esto resulta frecuentemente visible durante la toma de muestra. En hombres con uretritis, los microorganismos pueden llegar a colonizar el epidídimo (epididimitis) y la próstata (prostatitis), pero rara vez los testículos.

Además, hay estudios que asocian a este agente facilitando la transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana y del virus papiloma humano (Smith J, y col, 2002; Jalal H, y col 2007).

1.4.2.7. Diagnóstico

La búsqueda de *C. trachomatis* debe realizarse en todos los casos de uretritis, de cervicitis, de *ophthalmia neonatorum*, de conjuntivitis de inclusión, de tracoma y de sospecha de linfogranuloma venéreo. Siendo esta especie una bacteria intracelular, la muestra debe asegurar un alto contenido de células.

El CDC recomienda el estudio de *C. trachomatis* en todas las embarazadas durante el primer trimestre, para prevención de complicaciones tanto en la madre como en el recién nacido (Workowski K. A. y Berman S. M., 2011).

Método de aislamiento

Originalmente, el cultivo de *C. trachomatis* se realizó en huevos embrionados de gallina, sustrato que presenta una gran sensibilidad, pero conlleva mayores problemas operativos y requiere condiciones muy exigentes de bioseguridad (Joklik W. y col, 1998). Posteriormente, se descubrieron líneas de cultivos celulares susceptibles, en la actualidad se utilizan las líneas Mc Coy, LLCMK2, HeLa y Vero entre otras.

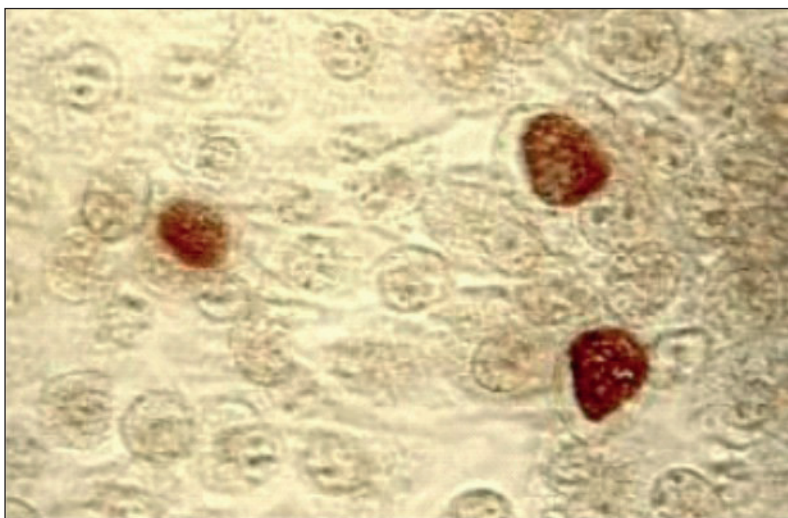


Figura 9: Cuerpos de inclusión de *Chlamydia trachomatis* (en color café) en un cultivo celular.

Fuente:(<http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=3802>)

Entre las 48 y 72 horas posteriores a la infección, se revela la presencia de inclusiones típicas, mediante el uso de anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína. En laboratorios experimentados el cultivo presenta una especificidad del 100% y una sensibilidad cercana al 80% (Murray P. y col, 2007).

Detección de antígenos

La prueba de uso frecuente es la detección de antígenos de *C. trachomatis* por inmunofluorescencia directa (IFD) a partir de hisopados endocervicales y uretrales. Esta técnica utiliza anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína, son en su mayoría, dirigidos al LPS, pero también existen dirigidos a la MOMP.

También se utilizan técnicas de ELISA y pruebas rápidas (inmunoprecipitación y enzoinmunoensayos ópticos), que utilizan anticuerpos contra el LPS de membrana. Estos métodos presentan una sensibilidad y especificidad menor a la del cultivo pero resultan de utilidad en poblaciones con alta circulación de *C. trachomatis*.

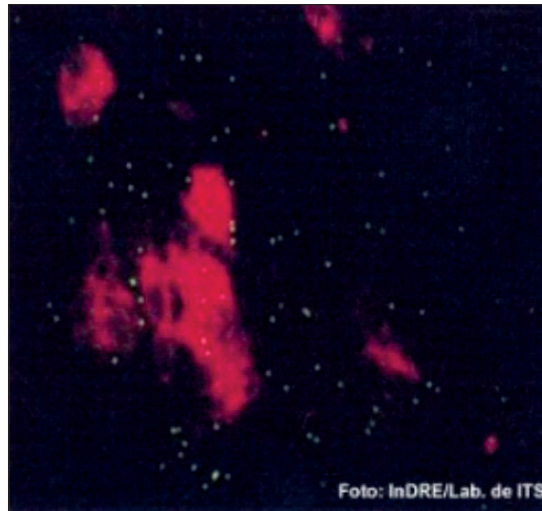


Figura 10: *Chlamydia trachomatis* IFI.

Fuente: http://www.indre.salud.gob.mx/interior/lab_its.html

Detección de ácidos nucleicos

Puede realizarse mediante la hibridización con sondas específicas o por amplificación de segmentos génicos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), amplificación por desplazamiento de hebras de ADN (SDA) (Darville T., 2013) y amplificación mediada por transcripción (TMA) (Pradenas M., 2014).

Las técnicas de amplificación génica presentan una sensibilidad mayor a las técnicas de detección de antígenos y al cultivo. Su blanco molecular puede ser el plásmido críptico. Debe considerarse que han sido descritas cepas que carecen del plásmido como fue mencionado anteriormente. La amplificación por PCR del plásmido críptico otorga mayor sensibilidad a la técnica, permite detectar 0,1 unidades formadoras de inclusión (Mahony J., y col, 1993, Sánchez Monroy V. y col, 2009).

Otros estudios de PCR se basan en la amplificación del gen *ompA*, y en la detección de ARN ribosómico (rARN) clamidial por hibridización con sondas de ADN (Stamm W., y col, 2006, Sánchez Monroy V. y col, 2009).

Las cepas de *C. trachomatis* son clasificadas en genotipos utilizando las técnicas de PCR- RFLP (polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción), secuenciamiento del gen *ompA*, dot blot reverso, PCR multiplex en tiempo real y también en base a la metodología de microarray (Gallo Vaulet y col, 2010; Monetti M. y col, 2013).

Citohistopatología

La detección de células infectadas se puede realizar sobre extendidos coloreados con las técnicas de Giemsa o Machiavello. Tienen utilidad en el diagnóstico del tracoma y de la conjuntivitis de inclusión neonatal. En los estudios de las infecciones genitales, muestran una baja sensibilidad y especificidad (Black C., 1997).

Serología

No es de utilidad en el diagnóstico de las infecciones del biovar TRIC de *C. trachomatis*, ya que éstas no producen títulos de anticuerpos elevados. La prueba es incapaz de diferenciar entre infecciones actuales y previas dado que los títulos de anticuerpos pueden permanecer durante períodos de tiempo prolongados. Una excepción es la detección de IgM en los niños con neumonitis por clamidias (Murray P. y col, 2007).

1.4.2.8. Tratamiento

Los regímenes terapéuticos antimicrobianos para infecciones por clamidias requieren agentes con excelentes propiedades de penetración en los tejidos; más aún, deben mantenerse las concentraciones bactericidas por extensos períodos debido al crecimiento lento y a la naturaleza de las clamidias (Darville T., 2013).

Es desaconsejable el uso de antibióticos betalactámicos debido a la ausencia de una pared compuesta por peptidoglicano. Además, esta bacteria es naturalmente resistente a los aminoglucósidos, las quinolonas de primera generación y a la vancomicina.

A los pacientes se les prescribe azitromicina 1g por vía oral en una única dosis o doxiciclina 100 mg por vía oral cada 12 horas durante 7 días. Con ambos tratamientos se observó 97%-98% de cura bacteriológica. La eritromicina es una alternativa para mujeres embarazadas y neonatos (Pradenas M., 2014; Darville T., 2013).

1.4.3. *Neisseria gonorrhoeae*

1.4. 3.1. Definición y Clasificación Taxonómica

Neisseria gonorrhoeae es una bacteria perteneciente al orden *Neisseriales*, familia *Neisseriaceae*. Tiene como único reservorio al hombre y se transmite por contacto interhumano en forma exclusiva (Jerse A., di Rita V., 2013, Murray P. y col, 2007).

El nombre común es gonococo y es el agente etiológico de la gonorrea, la cual es una de las enfermedades humanas más antiguas transmitidas por contacto sexual que se conocen (Pradenas M., 2014). *Neisseria gonorrhoeae* se adhiere al epitelio columnar de las membranas mucosas uretrales, endocervicales, anales y faríngeas, por lo que afecta predominantemente estas áreas (Jerse A., di Rita V., 2013, Handsfield H. y col 2006).

1.4.3.2. Epidemiología

Se calcula que en el mundo existen 498,9 millones de casos nuevos anuales de infecciones de transmisión sexual (ITS) en adultos con edades comprendidas entre los 15 y los 49 años. En el caso de la gonococia se calcula que existen más de 100 millones de casos nuevos por año (OMS, 2012).

La incidencia de gonorrea es alta en comunidades densamente pobladas y entre

personas sexualmente activas, particularmente entre adolescentes y adultos jóvenes. En los últimos años disminuyó la prevalencia de gonorrea posiblemente como resultado del uso intensificado de antimicrobianos betalactámicos y las recomendaciones para la prevención de la infección por el VIH (Ovalle A. y col 2012).

En Argentina las notificaciones de supuraciones genitales gonococicas entre los años 2012 a 2014 indican la persistencia endémica de esta patología con una frecuencia anual de entre 2.500 a 3.500 casos aproximadamente. En el año 2014 se observó un descenso del 9% con respecto al año 2013. Las provincias de Formosa, Chaco, Catamarca, Misiones, San Juan y Tierra del Fuego registraron las mayores tasas de notificación para ese año (Boletín Integrado de Vigilancia N° 243 - SE 3 / 2015. Páginas 91-92. Ministerio de Salud de Nación - Argentina).

1.4.3.3. Biología y morfología

Las especies del género *Neisseria* son diplococos Gram negativos con los lados adyacentes achatados en formas de grano de café. El tamaño es de 0,6 a 1,5 µm, dependiendo de las especies, fuente de aislamiento y edad del cultivo. Estos microorganismos son inmóviles y no esporulados (Joklik W. y col 1998; Handsfield H. y col 2006).

La mayoría de las especies de *Neisseria* requieren medios de cultivo enriquecidos tales como agar chocolate que proporciona una rica fuente de hierro. Todas son aeróbicas, tienen una temperatura óptima de crecimiento de 35-37° C y en la caracterización bioquímica resultan positivas a las pruebas de oxidasa y catalasa. Producen ácido a partir de glucosa (pero no de maltosa, sacarosa ni lactosa) por oxidación, no por fermentación. También producen DNAsa y reducen nitratos a nitritos. Algunas especies necesitan humedad y CO₂ entre 5-10% para crecer, especialmente *Neisseria gonorrhoeae*.

El aislamiento de estos microorganismos de los sitios que normalmente contienen concentraciones elevadas de bacterias saprófitas como por ejemplo faringe, recto, cervix puede ser difícil. Esto se supera con el uso de medios selectivos como el Thayer Martin (Handsfield H. y col 2006).

1.4.3.4. Estructura antigénica. Factores de virulencia

La composición antigénica de *Neisseria gonorrhoeae* es compleja. Asociada con su estructura básica, la envoltura es similar a las de otras bacterias Gram negativas. Los componentes específicos de superficie se han relacionado con la adherencia, la penetración celular y tisular, la citotoxicidad y la pérdida de las defensas del huésped, (Handsfield H. y col 2006) lo que tiene importancia en la patogenia de las enfermedades producidas por este microorganismo (Castillo M.C., 2006).

Una característica notable de este microorganismo es su capacidad de revertir la expresión de sus moléculas de superficie, o experimentar variación antigénica con alta frecuencia. Se destacan por su variabilidad los pili, las proteínas de opacidad de colonias (Opa) y el lipooligosacárido (LOS), lo cual ha retardado el desarrollo de vacunas (Jerse A. y di Rita V., 2013).

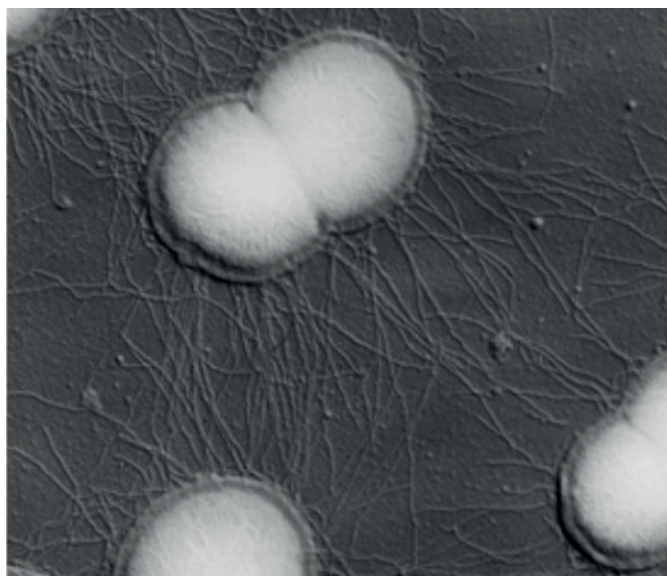


Figura 11: Microscopía electrónica de *Neisseria gonorrhoeae*, mostrando pili.

Fuente:(<http://advocatesaz.org/2011/04/11/sti-awareness-gonorrhea/neisseria-gonorrhoeae-sem-nibib-nih-gov-2/>)

1.4.3.5. Mecanismos de patogenia

La infección primaria habitualmente comienza en el epitelio transicional de la uretra, en conductos y glándulas periuretrales en ambos sexos. También las mucosas cervical, conjuntival y rectal sirven como puertas de entrada.

Los gonococos se adhieren, mediante los pilis, solamente sobre las microvellosidades de las células del epitelio columnar no ciliado. La bacteria entra en las células epiteliales por un proceso de endocitosis y es transportada rápidamente por una vacuola a la base de las células, donde por exocitosis penetra al tejido subepitelial (Handsfield H. y col 2006), y allí se multiplica.

Durante la infección el LOS y el peptidoglicano son liberados por autólisis bacteriana, lo que activa por vía alterna el complemento y estimula la producción de factor de necrosis tumoral (TNF) causando daño celular. La liberación de mediadores y quimioattractantes provoca una enérgica respuesta inflamatoria, con descamación del epitelio, desarrollo de abscesos submucosos y exudación de pus. Los neutrófilos atraídos, eliminan las bacterias por fagocitosis. Algunos gonococos pueden evadir los mecanismos de destrucción y continuar su multiplicación intracelular (Castillo M.C., 2006, Murray P., y col, 2007).

La diseminación a otras áreas a menudo ocurre directamente a través de vasos linfáticos o, menos corrientemente por vasos sanguíneos

1.4.3.6. Aspectos clínicos

GONORREA NO COMPLICADA: La mayoría de las infecciones gonocócicas del tracto genital inferior son no complicadas, y se asocian a la infección del epitelio columnar de las membranas mucosas.

En el hombre los síntomas de una uretritis aguda incluyen desde una descarga uretral clara a una sumamente purulenta, con ardor al orinar. La infección asintomática ocurre sólo en 1 al 5% de los hombres, y los pacientes no tratados pueden desarrollar epididimitis y prostatitis.

En la mujer, la infección sintomática, no complicada se caracteriza por descarga vaginal purulenta y disuria. La infección genital puede ascender y causar inflamación pélvica, que se manifiesta como endometritis, salpingitis, peritonitis pélvica y absceso tubo-ovárico, que pueden conducir a un embarazo ectópico o a la infertilidad (Handsfield H. y col 2006, Castillo M.C., 2006).

INFECCIÓN GONOCÓCICA DISEMINADA (IGD): Aproximadamente el 1-3% de personas con gonorrea pueden desarrollar infección gonocócica diseminada (IGD), la cual está asociada con infección asintomática no tratada y con personas deficientes en factores de complemento C7, C8 o C9. Las manifestaciones de la IGD incluyen lesiones cutáneas pusturales con una aureola rojiza circundante, tenosinitis, e infección de las articulaciones (artritis supurativa) (Jerse A. y Di Rita V., 2013; Joklik W. y col, 1998).

1.4.3.7 Diagnóstico

Las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de este microorganismo incluyen:

Examen directo. Coloración de Gram

La coloración de Gram de la secreción uretral usualmente muestra leucocitos polimorfonucleares con diplococos Gram negativos intra y extracelulares. Raramente se observan otras bacterias en estos extendidos. Debido a esto y en presencia de síntomas clásicos se puede instituir una terapia antimicrobiana específica para gonorrea en pacientes varones. La coloración de Gram es una metodología de diagnóstico suficiente en el caso de uretritis aguda en el hombre, aunque posteriormente debe confirmarse por cultivo. Esta técnica presenta un 98% de sensibilidad y 100% de especificidad (Joklik W. y col 1998; Handsfield H. y col 2006).

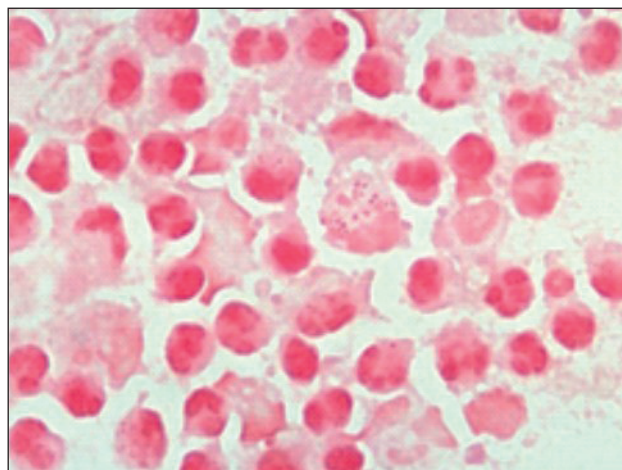


Figura 12: Coloración de Gram: diplococos Gram negativos intra y extracelulares.

Fuente: propia

En la coloración de Gram de muestras endocervicales y anorrectales se puede observar material mucopurulento con diplococos Gram negativos, pero dichas muestras pueden estar colonizadas por microorganismos morfológicamente similares como las especies del género *Neisseria* saprófitas, *Veillonella* spp., *Acinetobacter* spp., etc. Por lo tanto, no es recomendable realizar un diagnóstico presuntivo con la coloración. Debe confirmarse siempre con cultivos (Castillo M.C., 2006; Handsfield H. y col 2006).

Cultivo y aislamiento

Se usan medios de cultivos selectivos como Thayer- Martin y no selectivos como el agar chocolate. La incubación es a 35-37°C en un ambiente enriquecido con CO₂ (5%) y humedad.

Las muestras clínicas que provienen de sitios no estériles deben sembrarse tanto en medios selectivos como no selectivos.

Detección de antígenos por enzimoimmunoensayo

Este método detecta antígenos de gonococos. Es muy sensible y específico en secreciones uretrales y en primera micción de orinas, pero es menos sensible para detectar gonococos en secreción endocervical (Castillo M. C., 2006.).

Amplificación de ácidos nucleicos

Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) tienen una sensibilidad del 100% comparadas al cultivo de endocervix, uretra, recto y faringe; se pueden aplicar a muestras de vagina y de vulva pero no determinan la sensibilidad a los antimicrobianos, por lo que se recomienda realizar cultivo en forma paralela.

Las TAAN disponibles en la actualidad para *N. gonorrhoeae* emplean varias tecnologías relacionadas, que incluyen la amplificación mediada por transcripción, la reacción en cadena de la polimerasa o la amplificación por desplazamiento de hebras de ADN (Handsfield H. y col., 2006).

Así como se ha empleado la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiple para la detección de varios virus a partir de muestras clínicas, también se utiliza esta metodología para detectar en forma simultánea bacterias transmitidas sexualmente, tales como *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Mycoplasma genitalium* (Mahony J. y col, 1995; Rumyantseva T. y col, 2015).

A finales de la década pasada se evaluó la utilidad del ensayo de PCR en tiempo real con un doble blanco de amplificación, demostrando muy buena sensibilidad y especificidad en la detección de *N. gonorrhoeae* (Goire N. y col, 2008).

1.4.3.8 Tratamiento

El uso indiscriminado de antibióticos, produjo un incremento de la resistencia a

diferentes antimicrobianos. Una proporción relativamente elevada de gonococos lleva en la actualidad un plásmido que codifica a una beta-lactamasa, enzima que destruye la penicilina (Jerse A. y Di Rita V., 2013).

No es aconsejable el uso de fluorquinolonas por el aumento en la resistencia bacteriana. Esta resistencia se detectó primero en hombres que tienen sexo con hombres (HSH), y luego se trasladó a toda la población sexualmente activa (Primer Consenso de diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades de Transmisión sexual, organizado por la Sociedad Argentina de Infectología- 2011).

La terapia inicial para gonorrea no complicada es ceftriaxona 250 mg intramuscular, dosis única ó cefixima 400 mg vía oral, única dosis.

Los pacientes infectados por *N. gonorrhoeae* a menudo están coinfectados con *Chlamydia trachomatis*. Esto ha conducido a la recomendación de que los pacientes que reciban tratamiento por infección gonocócica, también reciban un agente anticlamidial como azitromicina o doxiciclina (Jerse A. Di Rita V., 2013).

1.4.4. Virus Papiloma Humano

El Virus Papiloma Humano (HPV) pertenece a la familia *Papillomaviridae*. Es responsable de una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes.

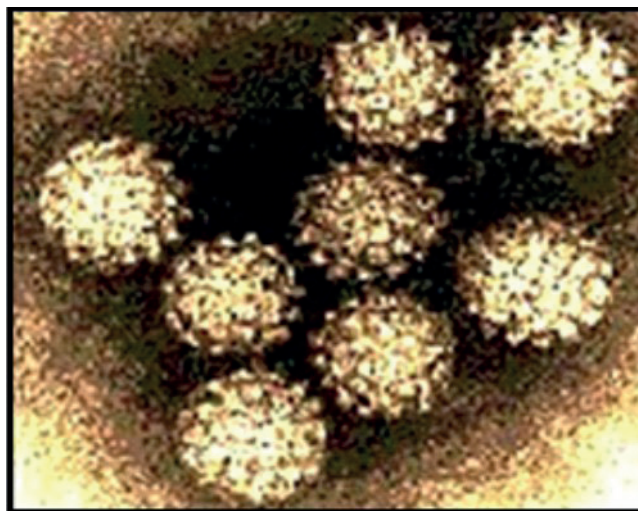


Figura 13: Virus HPV

Fuente: http://www.alessandrofeio.it/hpv_condilomatosi_.html

Los virus de la familia *Papillomaviridae* están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Infectan la piel y las mucosas en sus hospedadores naturales (hombres, otros mamíferos y aves) produciendo lesiones epiteliales proliferativas (verrugas), que por lo general remiten espontáneamente. Por otro lado se ha demostrado que el HPV favorece el desarrollo de algunas lesiones preneoplásicas o neoplásicas mucocutáneas (Teyssié A. y col, 2006).

La identificación de HPV se realiza mediante técnicas moleculares, así se demostró una gran heterogeneidad genómica en los mismos. Actualmente se han identifica-

do más de 100 tipos de HPV en base a la homología de sus secuencias nucleotídicas, de éstos casi la mitad se detectan en el tracto anogenital humano (Androphy E., 2013 y Tonon S. y col, 2003).

1.4.4.1. Epidemiología

La infección genital por HPV (clínica y subclínica) representa la infección de transmisión sexual viral más frecuente a nivel mundial. Los datos obtenidos por PCR muestran un pico de prevalencia 30 - 60% entre los 15 y 25 años de edad. Esta curva declina con la edad hasta valores de prevalencia del 5 - 15% después de los 35 - 40 años. La mayoría de las infecciones en mujeres menores de 30 años son transitorias, en tanto que a mayor edad tienden a ser persistentes (Androphy E., 2013).

El cáncer cervical es el segundo tipo de cáncer más común en mujeres de todo el mundo y el primero en países en desarrollo. La Organización Mundial de la Salud informó hace 10 años una incidencia mundial de cáncer cervical de alrededor de 500.000 casos invasivos diagnosticados por año (Galcerán Padrós J. y col, 2006).

La Argentina se encuentra dentro del rango de países con incidencia de cáncer media-alta (172,3 - 242,9 x 100.000 habitantes); de acuerdo a las estimaciones realizadas por la IARC (International Agency Research Cancer) para el año 2012. Esta estimación corresponde a más de 100.000 casos nuevos de cáncer en ambos sexos por año, con porcentajes similares tanto en hombres como en mujeres.

Al observar la distribución absoluta y relativa de casos incidentes de cáncer estimados por la IARC para Argentina, en 2012 según localizaciones tumorales más frecuentes, el cáncer de cérvix, con 4.956 casos representa el 8,2% (tercero en orden de mayor frecuencia) del total de los cánceres anuales identificados en mujeres (www.msal.gov.ar/inc/index.php/acerca-del-cancer/estadisticas).

1.4.4.2. Estructura y composición química

Los virus del papiloma humano son virus desnudos, carecen de una envoltura lipídica. La ausencia de esta envoltura hace que sean resistentes a la desecación, al calor, a los detergentes y surfactantes. Por lo tanto pueden conservarse infectantes en el ambiente durante periodos prolongados (Androphy E., 2013).

La cápside icosaédrica del HPV tiene un diámetro de 50 a 55 nm y está formada por dos proteínas estructurales que forman 72 capsómeros. El genoma del HPV es circular y tiene aproximadamente 8.000 pares de bases. El ADN de la familia *Papillomaviridae* codifica 8 genes precoces (E1 a E8) dependiendo del virus y dos genes tardíos o estructurales (L1 y L2) (Murray P. y col, 2007).

La clasificación actual de la familia está basada en el rango de hospedador y la homología de sus ADN. Se considera un nuevo tipo viral cuando éste difiere en más de un 10% de homología con la región genómica conservada L1.

1.4.4.3. Patogenia

Las partículas de HPV están presentes en la superficie de las verrugas, las partículas se propagan por contacto directo de piel a piel, por contacto con otras personas o con uno mismo. La piel intacta es altamente resistente a la entrada de las partículas víricas (Androphy E., 2013). La transmisión del HPV durante el contacto sexual se produce de forma muy eficiente porque el contacto íntimo altera la barrera epitelial. Otro modo de adquirir la infección es durante el paso del feto a través del canal del parto infectado (Murray P. y col, 2007).

La maquinaria de transcripción de la célula controla la replicación del HPV según determina la diferenciación de la piel o el epitelio mucoso (Murray P. y col, 2007). Estos virus no codifican la polimerasa de ADN para replicar su genoma y, por lo tanto, dependen de las enzimas de replicación del ADN de la célula hospedadora para su proliferación (Androphy E., 2013).

El virus accede a través de microabrasiones de la piel a las capas de células basales que son las únicas capaces de dividirse en el epitelio. El virus necesita células en división para poder iniciar su ciclo de multiplicación. La expresión de los genes virales tempranos induce a la proliferación celular produciendo hiperplasia de células basales y como consecuencia de ello un plegamiento del epitelio con aumento de las papilas dérmicas (papilomatosis) y del grosor del epitelio (acantosis).

El genoma viral replica muy lentamente como un plásmido, al ritmo de la división celular. A medida que el epitelio se va diferenciando, se completa la síntesis del ADN en las capas intermedias del epitelio y de las proteínas de la cápside en las capas superficiales. Cuando la maduración del tejido progresa, la multiplicación del virus culmina con la producción de viriones y la lesión tiene capacidad de transmitir la infección. La replicación viral se asocia además con vacuolización del citoplasma, con formación de un halo perinuclear característico denominado “coilocito” (Murray P. y col, 2007; Teyssié A. y col, 2006).

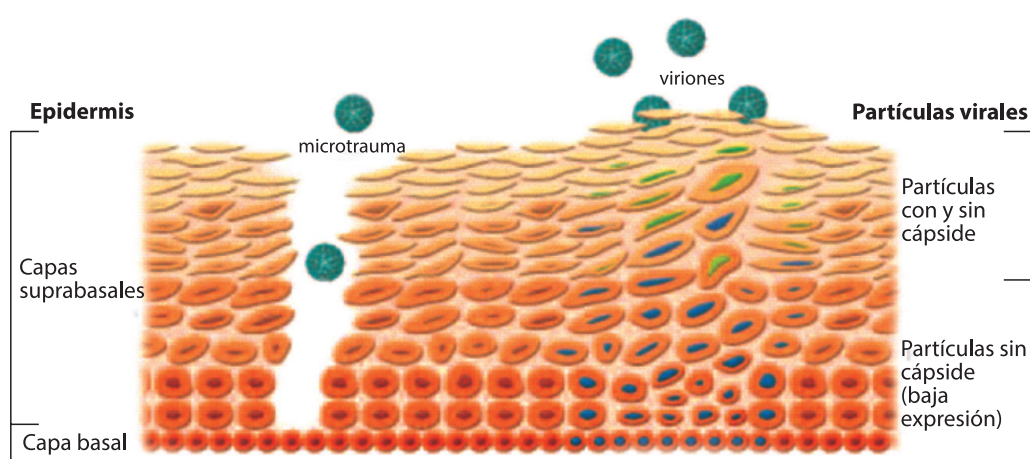


Figura 14: Replicación viral: luego de la infección de las células basales, a medida que se produce la diferenciación celular, ocurre la replicación del genoma en las capas intermedias, continuando con el ensamblado y liberación del virión en las capas superficiales del epitelio.

Fuente: <http://scielo.isciii.es/pdf/onco/v30n2/02.pdf>

El tropismo tisular y el cuadro clínico dependen del tipo de papilomavirus. La replicación viral depende de la fase de diferenciación de la célula epitelial: es persistente en la capa basal y activa en los queratinocitos diferenciados. Los virus provocan un crecimiento benigno de las células, que da lugar a las verrugas. Las verrugas se resuelven espontáneamente, posiblemente como resultado de la respuesta inmunitaria. Determinados tipos se asocian con displasia que puede convertirse en cancerígena con la acción de los cofactores. El ADN de determinados tipos de HPV está presente (integrado) en los cromosomas de las células tumorales (Lizano-Soberón M. y col 2009).

Los HPV que infectan el tracto anogenital son alrededor de 40 tipos y han sido subdivididos en dos grupos sobre la base de su potencial oncogénico:

- (a) HPV de bajo riesgo (principalmente HPV 6, 11, 42, 43 y 44), comúnmente encontrados en condilomas acuminados y neoplasias intraepiteliales de bajo grado y con mínimo riesgo de progresión maligna.
- (b) HPV de alto riesgo (HPV 16, 18, 31 y 45, entre otros) asociado a infecciones persistentes que pueden conducir al cáncer (Picconi A. y Teyssié, 2015).

1.4.4.4. Aspectos Clínicos

Desde el punto de vista de su acción sobre el hospedador, los HPV comprenden dos grupos clínico-patológicos, los cutáneo trópicos y los mucoso trópicos que afectan la mucosa genital, oral y respiratoria.

LESIONES CUTÁNEAS: las lesiones de piel comprenden verrugas planas, maculares, papilomatosas, etc., son autolimitadas y remiten espontáneamente o por tratamiento. (Teyssie A. y col, 2006) Su localización es variada, normalmente manos y pies. Las verrugas cutáneas son más prevalentes en niños por encima de los 5 años y en adolescentes (Murray P. y col, 2007).

PAPILOMATOSIS LARÍNGEA: Es una enfermedad más común en los niños que en los adultos. La localización es más frecuente en las cuerdas vocales. Puede representar un riesgo de muerte en los niños debido a que los papilomas pueden obstruir las vías respiratorias. Los tipos virales principalmente detectados son el HPV6 y el HPV11 (Murray P. y col, 2007, Androphy E., 2013).

INFECCIONES GENITALES: varios tipos virales infectan la mucosa del tracto anogenital, dando lugar a lesiones que difieren en apariencia clínica, histológica y riesgo de progresión maligna. En base a estas características, se dividen en dos grupos: las verrugas o condilomas anogenitales que están asociados con los HPV 6 y 11, en ellos los virus se hallan en forma no integrada al genoma celular. En el segundo grupo se consideran las neoplasias intraepiteliales de distinto grado de gravedad (CIN de I a III) y el carcinoma invasor. Los tipos virales más frecuentemente detectados son HPV 16, 18, 31, 33, 39, 45 y 51. El HPV 16 es el prototipo del grupo y ha sido identificado en casi la mitad de todos los cánceres de cuello uterino (Lizano-Soberón M. y col 2009). Una característica general de estas lesiones es la integración del virus al genoma celular.

1.4.4.5. Cofactores en la carcinogénesis del tracto genital asociada a la infección por HPV

La ubicuidad del HPV y el largo período de latencia entre la infección y el desarrollo del cáncer indican que la presencia viral *per se* no es suficiente para generar la neoplasia. Otros factores podrían contribuir a la transformación maligna. Se han considerado, entre otros, la exposición a carcinógenos físicos (radiaciones), químicos y coinfecciones con patógenos potencialmente oncogénicos (*Herpes simplex*, clamidias). Asimismo, son importantes los factores del hospedador, como la herencia, el estado inmunológico y/o hormonal, nutrición y tabaquismo (Teyssie A. y col, 2006).

La mayoría de las infecciones, aun las producidas por los tipos de alto riesgo (con o sin anomalías citológicas), son transitorias; es decir que se mantienen por un tiempo acotado (Ellenson L.H., Pirog E.C., 2010). La duración media estimada es de 8 a 12 meses (Bosch José F.X. y col, 2006). Son autolimitadas y no dejan secuelas oncopatogénicas. Se sabe que el 70% de estas infecciones son controladas por el hospedador en un periodo de 1 año y que aproximadamente el 90% de ellas pueden ser limitadas en 2 años (Schlecht N.F. y col, 2001).

Sin embargo, los HPV pueden generar una infección persistente en una proporción minoritaria, aunque en valores absolutos son de importancia sanitaria por la elevada prevalencia de circulación viral en la población. La evidencia confirma que la infección persistente con tipos de HPV de alto riesgo oncogénico es la causa primaria del cáncer cervico uterino y de la mayoría de las lesiones precursoras; la infección persistente es un factor causal necesario para las anomalías precancerosas epiteliales cervicales de alto grado o neoplasia intraepitelial cervical. Se estima que deben transcurrir varios años (20 años aproximadamente) entre la infección inicial y el desarrollo del cáncer de cérvix (Ellenson L.H., Pirog E.C., 2010).

La infección temprana causada por el HPV se acompaña de alteraciones leves de la mucosa y no inducen una respuesta inmune vigorosa debido a que no son virus citolíticos y no inducen inflamación local.

Los HPV infectan el epitelio cervical sin entrar en la circulación, por lo que las partículas no se exponen eficazmente al sistema inmune. Como resultado, la vigilancia inmunológica típica, que involucra el tráfico de células especializadas desde el sitio de la infección hasta órganos linfoides secundarios, se encuentra limitada. Además, una vez dentro de la célula, la partícula del papilomavirus puede utilizar múltiples mecanismos para evadir la respuesta inmune que es necesaria para la eliminación de la infección (Kanodia S. y col, 2007).

Se desconoce el grado y la duración de la inmunidad inducida por la infección. Aproximadamente la mitad de las mujeres infectadas desarrollan anticuerpos séricos detectables, pero estos anticuerpos no protegen contra sucesivas infecciones por el mismo tipo viral (Stanley M., 2007). Es posible la reinfección por los mismos genotipos. Los anticuerpos mejor caracterizados y específicos son los dirigidos contra la proteína L1 viral. El tiempo medio entre la infección y la seroconversión es de 8 a 12 meses, pero éste varía según el huésped y el tipo viral (Ellenson L.H., Pirog E.C., 2010). La respuesta inmune mediada por células constituye la principal vía de control y eliminación de la infección (Teyssié, A. y cols, 2006).

1.4.4.6. Diagnóstico

El diagnóstico se fundamenta en la colposcopia, citología, histología y técnicas virológicas para detectar y/o tipificar el HPV. Ya que la mayor parte de las infecciones anogenitales por HPV son subclínicas, estas metodologías deben complementarse para obtener una información más completa (Picconi M.A. y Teyssie A., 2015).

Distintas técnicas son utilizadas para detectar y/o tipificar el HPV presente en un material clínico. Éstas se diferencian en cuanto a las características de las muestras, el blanco que detectan (virión, proteína de la cápside o ácido nucleico), la sensibilidad y especificidad.

Dentro de los métodos virológicos, se pueden citar la microscopía electrónica, que permite observar la partícula viral completa; la detección del antígeno de la cápside en las infecciones productivas mediante la técnica de la inmunoperoxidasa; la hibridación; y la PCR para la detección del DNA viral y su tipificación.

Actualmente están en uso una serie de estrategias para la tipificación molecular, entre ellas se incluyen las técnicas clásicas de hibridación (southern blot, dot blot, hibridación, captura de híbridos, etc.) y aquellas que aplican la amplificación por PCR empleando oligonucleótidos iniciadores genéricos, combinada con las técnicas anteriores como ser PCR-hibridación con oligosondas tipo específicas, PCR-RFLP o PCR-SSCP (Teyssie A. y col, 2006).

1.4.4.7. Tratamiento

No existe un tratamiento antiviral específico para las verrugas. Casi todas las modalidades de tratamiento son ablativas, como la crioterapia con nitrógeno líquido y la aplicación de productos químicos cáusticos, queratolíticos, o citotóxicos (Androphy E., 2013).

Las opciones de manejo para neoplasia intraepitelial cervical (CIN) de bajo grado varían ampliamente en el mundo, desde el control por la simple observación hasta escisión quirúrgica o la ablación con laser (Serman F., 2002, Androphy E., 2013).

Las guías de manejo para CIN de alto grado están bien establecidas. Se recomienda curetaje endocervical de no existir lesión visible en el exocérnix. En toda paciente con CIN de alto grado confirmado por biopsia debe realizarse conización con bisturí frío o electroconización para excluir enfermedad invasora (Serman F., 2002).

El tratamiento en pacientes con cáncer invasor depende de la extensión de la lesión, y también de factores como la edad, el deseo de conservar la fertilidad y presencia de otras entidades clínicas (Cervical Cancer: NIH Consensus Statement 1996.)

1.4.4.8. Prevención

En la actualidad están disponibles y licenciadas dos vacunas contra el HPV (una tetravalente, dirigida contra VPH 6, 11, 16 y 18 y la otra, bivalente, disponible en la provincia de Misiones, dirigida contra VPH 16 y 18). Ambas son preparadas por tecnología recombinante, utilizando proteínas estructurales L1 purificadas que son ensam-

bladas en partículas símil virus (VLP). Ninguna contiene productos biológicos vivos ni ADN viral. No tienen acción terapéutica (Ministerio de Salud de la Nación; 2014).

El mecanismo por el cual inducen inmunidad incluiría tanto la inmunidad celular como la humoral. Ambas vacunas demostraron ser seguras y altamente efectivas en prevenir neoplasia intraepitelial cervical, asociada a HPV de alto riesgo, de grado moderado y grave (CIN II y III) y tienen el potencial de reducir significativamente la incidencia de cáncer cervical. La vacuna tetravalente, además, demostró ser altamente eficaz en prevenir la aparición de verrugas genitales (condilomas) (Ministerio de Salud de la Nación; 2014, Picconi M., Teyssié A., 2015).

Las dos vacunas contra el HPV disponibles han sido licenciadas en más de 120 países e incorporadas en los programas nacionales de inmunización de varios de ellos (Ministerio de Salud de la Nación; 2014).

1.5. Aspectos Epidemiológicos

Todo estudio epidemiológico puede considerarse como un ejercicio de medición. De hecho, una de las tareas centrales de la investigación epidemiológica es cuantificar la frecuencia de la enfermedad o de otros problemas de salud en una determinada población (Bolúmar Montrull F., 2008).

La medición de la frecuencia absoluta de enfermedad, así como de sus variaciones geográficas y temporales, constituyen elementos necesarios para la investigación etiológica y para la instauración de las medidas de prevención y control. Esta medición no sólo tiene interés para la investigación clínica y epidemiológica, sino también para la propia práctica clínica, en la medida en que permite orientar el diagnóstico y el tratamiento (Bolúmar Montrull F. 2008).

Medir la frecuencia con la que aparecen las enfermedades u otras características relacionadas con la salud en la población es fundamental para la epidemiología, utiliza básicamente dos tipos de medida de frecuencia: la prevalencia y la incidencia. La prevalencia es la proporción de sujetos que tienen una enfermedad o característica en un momento dado. La incidencia mide la aparición de dicha enfermedad o característica en un período de tiempo (Jimenez García R. y col, 2008).

El objetivo de la epidemiología clínica es desarrollar y aplicar métodos de observación clínica que den lugar a conclusiones válidas, evitando las equivocaciones derivadas del error sistemático y del azar. Estas conclusiones deben conducir a proporcionar una mejor asistencia al paciente (Fletcher R. y Fletcher S. 2007).

1.5.1. Estudio de las pruebas diagnósticas

Establecer diagnósticos es un proceso imperfecto que da como resultado una probabilidad, en lugar de la seguridad de haber acertado. Cada vez más los médicos expresan la posibilidad de que un paciente sufra una enfermedad en forma de probabilidad (Fletcher R. y Fletcher S. 2007).

Decidir si un sujeto está enfermo es el paso previo a una acción posterior: tratar, esperar y asegurarse, o no tratar (Delgado Rodríguez M. y col, 2008).

En la práctica clínica y preventiva se realizan pruebas que nos permiten llegar a conclusiones de interés diagnóstico o pronóstico. Independientemente del fin, las pruebas nos sirven para clasificar a los individuos en función de una característica, habitualmente la presencia o ausencia de una enfermedad o factor de riesgo (interés diagnóstico) pero también en función del riesgo futuro de padecer una enfermedad o cualquier otro desenlace (interés pronóstico) (Esteban Hernandez J., Hernández Aguado I., 2005).

1.5.2. Exactitud de una prueba

La exactitud de una prueba es su capacidad para clasificar correctamente a los individuos en función de una característica, y es que las pruebas no siempre aciertan al clasificar a los individuos como enfermos o sanos. Según esto podrán existir falsos positivos (FP), personas que dan positivo en la prueba pero que en realidad no están enfermas, y falsos negativos (FN), personas que dan negativo en la prueba estando enfermas. El resto serán aciertos que se denominan verdaderos positivos (VP) si la prueba los clasificó como enfermos siéndolo, o verdaderos negativos (VNe) cuando los clasificó correctamente como sanos (Esteban Hernandez J. y Hernandez Aguado I., 2005).

Para decidir si la prueba acierta o falla al clasificar a los sujetos, se necesita otra prueba con la que comparar, a la que se denomina patrón oro (gold standard) y que determina quién está realmente sano y quién enfermo. Para analizar la exactitud de la prueba se utilizan dos medidas:

SENSIBILIDAD: Es la proporción de VP sobre el total de personas enfermas (VP+FN), es decir la proporción de enfermos que darían positivo en la prueba.

ESPECIFICIDAD: Es la proporción de VNe sobre el total de personas sanas (VNe+FP), es decir, la proporción de sanos que darían negativo en la prueba.

1.5.3 Valor Predictivo

La interpretación de los resultados de una prueba no depende sólo de su sensibilidad y su especificidad, sino también de la prevalencia de la condición que se desea detectar. La prevalencia es la probabilidad de padecer enfermedad antes de realizar la prueba. Para conocer la probabilidad tras conocer el resultado de la prueba, contamos con los valores predictivos.

VALOR PREDICTIVO POSITIVO (VPP): es la probabilidad de una enfermedad en un paciente con un resultado positivo (anormal) en una prueba. Se calcula como la proporción de individuos verdaderamente enfermos (VP) sobre el total de resultados positivos (VP+FP).

VALOR PREDICTIVO NEGATIVO (VPN): es la probabilidad de no sufrir la enfermedad cuando el resultado de la prueba ha sido negativo (normal). Se calcula como proporción de individuos no enfermos (VNe) sobre el total de negativos (VNe+FN).

Para una misma sensibilidad y especificidad (misma prueba), a mayor prevalencia mayor es el VPP y menor el VPN. Y lo contrario, cuanto menor es la prevalencia

menor es el VPP y mayor el VPN. Al depender de la prevalencia, no se pueden utilizar los valores predictivos para comparar pruebas diferentes en diferentes poblaciones (Esteban Hernandez J. y Hernandez Aguado I. 2005; Flechter R. y Fletcher S., 2007).

1.5.4. Razones de Verosimilitud

Los likelihood ratios (LR) o razones de verosimilitud se definen como cuántas veces es más probable que un paciente con la enfermedad tenga un determinado resultado en el test que pacientes sin la enfermedad. Dicho de otra manera, es la razón de probabilidad de un resultado específico en pacientes con la enfermedad versus en aquellos que no la tienen. En el caso de resultados dicotómicos el LR positivo toma valores entre 1 y el infinito, mientras que el LR negativo toma valores entre el 1 y el 0.

El LR positivo se calcula como sensibilidad dividido en 1- especificidad, o bien el cociente de verdaderos positivos dividido en falsos positivos. El LR negativo se calcula como en 1-sensibilidad dividido especificidad, o bien el cociente de los falsos negativos dividido en los verdaderos negativos. Si la razón de verosimilitud es igual a 1, la probabilidad del diagnóstico es la misma antes y después de aplicar la prueba. En este caso la prueba es inútil, no tiene capacidad discriminante. Cuanto más se aleje de 1 el valor de la razón de verosimilitud, con mayor fuerza la prueba nos sacará de la “zona de incertidumbre” diagnóstica.

Los LR son claves en cuánto son la expresión del teorema de Bayes, de relacionar probabilidades condicionales, en particular de la probabilidad pre-test para la estimación de la probabilidad post-test. La probabilidad pre-test, corresponde a la probabilidad de enfermedad del paciente en la población previo al empleo de la prueba diagnóstica, la que puede ser estimada de múltiples maneras, la consideraremos como igual a la prevalencia. La probabilidad post-test corresponde a la probabilidad de que el paciente tenga la enfermedad en nuestro escenario clínico y luego de aplicada la prueba diagnóstica (Bravo-Grau S. y Cruz Q J. 2015).

2

ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



Puente San Roque González (Posadas, Argentina-Encarnación, Paraguay)

2. ANTECEDENTES, JUSTIFICACION, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. ANTECEDENTES

Hace aproximadamente una década se conoció e implementó en la provincia de Misiones el estudio de disfunciones del tracto genital femenino mediante el uso del manual de procedimientos del programa BACOVA.

Ésto ocurrió a partir de una iniciativa del Dr. Ramon de Torres y dentro del marco del Programa de Educación Continua (PROECO) de la Fundación Bioquímica Argentina.

La Provincia de Misiones, localizada en la región noreste de Argentina, mostró históricamente registros de ITS superiores a la media nacional. Desde inicios del año 2000 una masa crítica de profesionales de la salud formados en el ámbito de la microbiología clínica, se interesaron en mejorar el diagnóstico, control, tratamiento y en los procedimientos que contribuyeran a una mejor calidad de atención de estas patologías.

Hasta la formulación del presente estudio, en Misiones no se registraban antecedentes de estudios que combinaran pruebas clásicas microbiológicas y moleculares identificando los principales agentes etiológicos y su posible asociación con disfunciones vaginales aplicando el BACOVA y sus categorías de estados vaginales básicos.

Resulta de particular interés conocer y comprender, además de la frecuencia y distribución de los agentes y síntomas asociados a las ITS, la fuerza de asociación con las disfunciones vaginales en sus diversos estadios.

En la Provincia de Misiones, como precedente, se registran estudios epidemiológicos sobre las ITS y los agentes microbiológicos identificados con mayor frecuencia en la población bajo cobertura sanitaria del Instituto de Previsión Social de Misiones (IPS).

La provincia de Misiones se encuentra organizada políticamente en 17 departamentos que incluyen a 75 municipios. Los municipios de Posadas, Garupá y Fachinal integran el Departamento Capital donde reside el mayor porcentaje de población de Misiones y también la mayor proporción de afiliados al IPS. En la ciudad de Posadas se localiza el Laboratorio de Análisis Clínicos del organismo mencionado y es aquí donde concurren los pacientes residentes en esta área geográfica y que requieren estudios microbiológicos.

En los años 2010 y 2011 un estudio realizado en el Laboratorio del IPS informó un 6,4% de supuraciones gonocócicas en muestras uretrales masculinas de 125 pacientes. En este período no se encontró *Neisseria gonorrhoeae* en muestras endocervicales (datos propios no publicados). Estos resultados se corresponden con los obtenidos por el laboratorio del Hospital Ramón Madariaga de Posadas, Misiones (comunicación personal de la especialista en Microbiología Clínica Viviana Villalba).

También en este laboratorio se detectó la presencia de *C. trachomatis* en un 5% en muestras uretrales masculinas en 81 pacientes y un 18% en muestras endocervicales de 370 mujeres en un período de 18 meses entre los años 2010 y 2011, utilizando métodos rápidos de búsqueda de antígeno (datos propios no publicados).

En las infecciones por HPV los datos obtenidos en los principales centros urbanos de la Argentina son similares a los descriptos por los países desarrollados. Sin embargo hay diferencias en el interior del país o áreas suburbanas, con situaciones socio-económicas más precarias. En Misiones se observó una prevalencia de 38% en una población de bajos recursos (Badano I., y col, 2011). En la provincia de Misiones, el cáncer de útero ocupó el primer lugar entre los tumores con una tasa de mortalidad de 37/100.000 en el grupo etario de 45-49 años en el año 2002 (Tonón S. y col, 2003).

Informes del Ministerio de Salud de Argentina del año 2014 señalan que la tasa provincial de mortalidad por cáncer de cérvix más elevada de 2012 se registró en Corrientes (17, 2 x 100.000 mujeres) provincia lindante con Misiones. Es posible estimar que las mujeres de Corrientes registraron en 2012 un riesgo de morir por esta causa 5 veces mayor que el de las mujeres que vivían en Tierra del Fuego. A nivel nacional la tasa de mortalidad bruta fue de 9,14 y estandarizada por edad para Argentina según datos de la población mundial de 7,0 por 100.000 mujeres.

Al analizar la mortalidad por cáncer cervicouterino en las provincias de Argentina se observó que Misiones registraba una tasa próxima al 15 por cien mil habitantes en el año 2012 ubicándose en el 4° lugar del país luego de Corrientes, Formosa y Chaco. Estas tasas fueron estandarizadas por edad y para Argentina según datos de población mundial por 100000 habitantes (Programa Nacional de Prevención y Control de Cáncer Cervicouterino - Argentina, 2014).

2.2. Justificación

Se cuenta con abundante literatura sobre la aplicación del BACOVA (Balance del Contenido Vaginal) en mujeres en edad fértil sintomáticas y asintomáticas, lo cual permite ordenar y optimizar la atención para el diagnóstico de las patologías más frecuentes del tracto genital femenino en laboratorios de baja complejidad y definir aquellas mujeres con un riesgo mayor de adquirir o padecer dichas patologías, las que deben ser estudiadas en centros de mayor complejidad.

En nuestra región, no se dispone de información que establezca la relación de los EVBs, con la portación y/o inducción de patología por los principales agentes responsables de infecciones transmitidas sexualmente, tanto bacterianos (clamidias y gonococos), virales (HPV) y parasitarios (tricomonas) en mujeres en edad fértil.

Es de gran importancia investigar esta relación en las mujeres que concurren a consulta por signos y síntomas de posible patología del tracto genital, pero de una manera especial, en el control prenatal y en el manejo de mujeres asintomáticas, que concurren a distintos tipos de controles.

El trabajo de tesis se focaliza en la investigación epidemiológica sobre la distribución de los EVBs en diferentes grupos (mujeres sintomáticas y asintomáticas, embarazadas o no) y la asociación con los agentes etiológicos de infecciones sexualmente transmisibles de importancia por su frecuencia e impacto en la salud de la población. Específicamente se estudiarán aquellos agentes de los que no se dispone información o la misma es muy limitada en la región: *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y Virus Papiloma Humano.

2.3. Hipótesis

Se pretende responder en el estudio a las siguientes cuestiones:

Problema 1: ¿Es posible observar asociación significativa entre *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* o Virus Papiloma Humano con los estados vaginales básicos (EVB)?

Hipótesis 1: La infección vaginal por *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* o Virus del Papiloma Humano está asociada a un EVB alterado.

Problema 2: ¿Se observa asociación significativa entre la presencia de los agentes etiológicos mencionados y aquellas mujeres que presentan reacción inflamatoria vaginal?

Hipótesis 2: La infección vaginal por *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* o Virus del Papiloma Humano está asociada a la presencia de reacción inflamatoria vaginal.

Problema 3: ¿Tiene utilidad la prueba del BACOVA para predecir la presencia de los agentes etiológicos mencionados en mujeres sintomáticas y asintomáticas?

Hipótesis 3: La prueba del BACOVA tiene utilidad para predecir la presencia de *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* o Virus del Papiloma Humano en mujeres sintomáticas y asintomáticas.

2.4. Objetivos

2.4.1. Objetivo General

Determinar la distribución de los Estados Vaginales Básicos (EVB) en diferentes grupos (mujeres sintomáticas y asintomáticas, embarazadas y no embarazadas) y analizar la asociación con agentes etiológicos de infecciones sexualmente transmisibles de importancia e impacto en la salud.

2.4.2. Objetivos Específicos

1.- Establecer la distribución de los Estados Vaginales Básicos (EVB) y características epidemiológicas de interés de las mujeres sintomáticas, asintomáticas, embarazadas y no embarazadas que concurren al laboratorio del Instituto de Previsión Social de la ciudad de Posadas.

2.- Conocer la prevalencia de las infecciones genitales por *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y Virus Papiloma Humano en las mujeres en estudio.

3.- Analizar la asociación de los estados vaginales básicos con *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y Virus Papiloma Humano.

4.- Obtener los valores predictivos de los estados vaginales con respecto a los resultados obtenidos de los agentes de infecciones de transmisión sexual estudiados.

3

MATERIALES Y MÉTODOS



Laboratorio del Instituto de Previsión Social



Obra Social Instituto de Previsión Social

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño del estudio

Se realizó un estudio descriptivo y transversal a partir de una muestra seleccionada de modo no aleatorio de la población de mujeres en edad fértil pertenecientes a la obra social del IPS y que brindaron consentimiento para el estudio de parámetros clínicos, bioquímicos y epidemiológicos.

Las muestras de secreción vaginal y endocervicales se obtuvieron en un período de 18 meses comprendido entre octubre de 2011 y abril de 2013.

3.2. Lugar de desarrollo del estudio

- Laboratorio del Instituto de Previsión Social (IPS), Sector Bacteriología, Posadas, Misiones.
- Laboratorio de Microbiología Clínica. Cátedra Virología. Departamento Microbiología. Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales- Universidad Nacional de Misiones
- Área de Inmunología y Virología Clínica. Cátedra de Microbiología Clínica. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA).
- Laboratorio de Clamidias y Virus Papiloma Humano. Instituto de Virología. “Dr. J. Vanella”. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba

3.3. Población del estudio

Mujeres en edad reproductiva con un rango de edad comprendido entre los 15 y 49 años, las cuales eran sintomáticas o asintomáticas, embarazadas o no, que residían en la ciudad de Posadas.

Se consideró sintomáticas a todas aquellas mujeres que al momento de la consulta refirieron tener secreción vaginal anormal, irritación, prurito, dolor pelviano, flujo vaginal maloliente, ardor, disuria o dispareunia.

3.4. Criterios de selección de sujetos

3.4.1. Criterios de inclusión

- Mujeres afiliadas o adherentes a la obra social del IPS.
- Mujeres en edad fértil: sintomáticas, asintomáticas, embarazadas y no embarazadas.
- Que residían en la ciudad de Posadas.
- Que brindaron consentimiento informado y aceptaron las entrevistas. (Anexo II)

3.4.2. Criterios de exclusión

- Mujeres prepúberes, mujeres perimenopáusicas, menopaúsicas o bajo tratamiento hormonal de reemplazo.
- Mujeres que estaban menstruando al momento de la entrevista y toma de muestra.
- Mujeres con tratamiento antimicrobiano 5 días previos al estudio.
- Mujeres sin abstinencia sexual por 48 hs.

3.5. Definición del tamaño muestral

El universo de población se estimó en 80.000 mujeres en edad fértil para la ciudad de Posadas considerando información demográfica del último censo nacional (octubre 2010). De éstas, un total de 23.000 mujeres corresponden a afiliadas o adherentes a la cobertura sanitaria que brinda el Instituto de Previsión Social de Misiones en el área Capital (Información suministrada por el sector de Informática del IPS).

Definiendo un intervalo de confianza del 95%, una precisión igual o inferior al 5%, una prevalencia estimada en la población para la vaginosis bacteriana del 20% (esto en base a estudios pilotos realizados con anterioridad en esta comunidad), se necesitaba incorporar al menos 380 muestras. Se seleccionaron una serie consecutiva de mujeres sintomáticas y otra de mujeres asintomáticas. Por otra parte se incluyó 100 mujeres embarazadas con una proporción similar de sintomáticas y asintomáticas.

3.6. Aspectos éticos

El presente trabajo fue aprobado, para su ejecución, por el Comité de Bioética de la Unidad Académica del Parque de la Salud de Posadas (Misiones). Todas las pacientes recibieron información oral y escrita sobre los objetivos del estudio, las pruebas de laboratorio y las entrevistas (Anexo I) que se les realizarían, antes de solicitarle la firma de aval al consentimiento informado para participar en el proyecto (Anexo II).

3.7. Metodología para la recolección de datos y muestras cervicales

El contacto con cada paciente se inició cuando ésta concurrió al laboratorio con la orden médica solicitando el estudio de exudado vaginal, atendiendo a criterios clínicos o evaluaciones preventivas por parte del profesional médico. En ese momento se les brindaron las instrucciones referidas a las condiciones que debían cumplir para la toma de muestra cervical, las cuales eran entregadas por escrito y explicadas verbalmente.

El día que concurrieron para la extracción de la muestra, a las mujeres que cumplían con los criterios de selección, se las invitó a participar del estudio cumpliendo las pautas de consentimiento informado que se adjunta.

A las mujeres que aceptaron participar y brindaron su consentimiento por escrito, se les realizó la entrevista para la obtención de datos clínicos y epidemiológicos.

Obtención de la muestra

Se colocó a la paciente en posición ginecológica. Se tomaron muestras del cuello del útero y del fondo de saco vaginal previa introducción de un espéculo descartable.

Se utilizaron cuatro hisopos de dacrón estériles, para cada paciente.

Con el primer hisopo se tomó una muestra de fondo de saco posterior y luego se introdujo el hisopo en el tubo y se reservó para las coloraciones de Gram y Giemsa.

Con el segundo hisopo, se hizo una segunda toma de fondo de saco posterior y luego se introdujo en otro tubo conteniendo 0,5 ml de solución fisiológica estéril destinado al examen en fresco.

Con el tercer hisopo se tomó muestra de endocérnix y se sembró en forma inmediata en Agar Chocolate y en Agar Thayer- Martin para la recuperación de *Neisseria gonorrhoeae*.

Con el cuarto hisopo se tomó muestra de endocérnix y se colocó en PBS pH 7,2 para la investigación de *Chlamydia trachomatis* y HPV mediante técnicas de biología molecular.

La toma de muestra, la siembra en Agar Chocolate y en Thayer Martin y la realización del BACOVA se desarrollaron en el laboratorio del IPS.

Las técnicas moleculares se llevaron a cabo, inicialmente, en la Unidad de Estudios de *Chlamydiae* y otras infecciones del tracto genital. Área de Inmunología y Virología Clínica. Cátedra de Microbiología Clínica. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Posteriormente fueron transferidas y realizadas en el laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.

La investigación de HPV se llevó a cabo en el laboratorio de Clamidia y HPV del Instituto de Virología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

3.8. Determinación del BACOVA

3.8.1. Examen en fresco

Se procesó la muestra destinada al estudio en fresco (hisopo en tubo con 0,5 ml de solución fisiológica), en un plazo no mayor de una hora a partir de obtenida.

Se homogeneizó manualmente, tratando de transferir la mayor cantidad de material a la fase líquida. Se colocaron 2 ó 3 gotas de la suspensión entre portaobjetos y cubreobjeto para la observación en fresco, con aumento de 400X.

Se investigó:

a.- La relación de lactobacilos con el resto de la microbiota habitual, generando un Valor Numérico preliminar, de apreciación subjetiva y que luego fue confirmado con la evaluación en la coloración de Gram.

b.- La presencia de bacterias móviles compatibles con *Mobiluncus*

c.- La presencia de levaduras.

d.- La presencia de tricomonas.

e.- La relación de leucocitos por campo (en este caso la línea de corte utilizada fue de diez leucocitos por campo).

f.- La presencia de células guía y células “redondas” o francamente distintas de aquellas epiteliales típicas, de presencia habitual en el contenido vaginal normal.

3.8.2. Examen de los extendidos teñidos con la coloración de Gram

Utilizando el hisopo sin agregado de solución fisiológica, se hicieron extendidos en portaobjetos desengrasados, limpios y secos, generando una capa fina. Se fijaron por calor y se procedió a la tinción de Gram.

De este extendido se obtuvieron tres criterios fundamentales:

1.- Valor Numérico (VN): VN de 0 a 10. Se asignó teniendo en cuenta la proporción relativa de tres criterios morfológicos. (Cuadro 2)

Cuadro 2: Diagrama del procedimiento de Nugent

Morfotipos en la coloración de Gram	Valor numérico (nº elementos/campo)				
	0	1	2	3	4
Bacilos Gram Positivos	>30	5-30	1-4	<1	0
Cocobacilos Gram variables	0	<1	1-4	5-30	>30
Bacilos Gram variables curvos	0	1-4	5->30	0	0

2.- Informe sobre morfotipos extraños: se sistematizaron en cuatro grupos: cocos y/o bacilos Gram positivos, bacilos Gram negativos (compatibles con enterobacterias), bacterias corineformes, y formas compatibles con *Actinomyces*.

3.- Número de leucocitos por campo con aumento de 1000X: se analizaron al menos cinco campos, no adyacentes, en las zonas donde el frotis era homogéneo. De esta forma se calculó el promedio de las lecturas obtenidas y se informó un solo número entero. En este caso la línea de corte que se utilizó fue de cinco leucocitos por campo.

Corrección del VN por la adición de dos puntos en caso de la detección de células guía, para Vaginosis Bacteriana

La detección de células guía, en cualquiera de los extendidos, independientemente de su número significó la corrección del valor numérico básico de Nugent, sumando dos puntos cuando éste se ubica entre 0 a 6. Valores numéricos de 7 o más son considerados de hecho indicadores de franca alteración de la microbiota vaginal y no requieren corrección.

Interpretación de la coloración de Gram del contenido vaginal según el criterio de Nugent

Ejemplo 1

- Si se observan más de 30 Cocobacilos Gram (-) por campo compatibles con *Gardnerella vaginalis* equivale a 4 puntos.
- Si no se observan Bacilos Gram (+) compatibles con *Lactobacillus* equivale a 4 puntos.
- Si se observan células guía, se le suma 2 puntos. El valor numérico resulta igual a 10.
- Además, si no se observa respuesta inflamatoria, este valor corresponde al EVB IV (Vaginosis Bacteriana).

Ejemplo 2

- Si se observan más de 30 Bacilos Gram (+) por campo compatibles con *Lactobacillus* equivale a 0 puntos.
- Si no se observan Cocobacilos Gram (-) compatibles con *Gardnerella vaginalis* equivale a 0 puntos.
- El valor numérico resulta igual a 0.
- Si no se observa respuesta inflamatoria, este valor corresponde al EVB I (Microbiota Normal)

3.8.3. Examen de los extendidos teñidos con la coloración de Giemsa

Utilizando el hisopo sin agregado de solución fisiológica, se hicieron extendidos en portaobjetos desengrasados, limpios y secos, generando una capa fina. Se fijaron con metanol y se procedió a la tinción de Giemsa.

Se utilizaron para una revisión general confirmatoria de resultados previos obtenidos con el fresco y con la tinción de Gram. Además se determinaron nuevos criterios de valor diagnóstico.

En esta etapa se procedió a:

- Verificar o detectar la presencia de tricomonas y levaduras.
- Verificar la presencia de morfotipos extraños.
- Confirmar o detectar la presencia de células epiteliales no habituales del contenido vaginal, principalmente de células guía, las cuales son un importante factor dentro del algoritmo diferencial de vaginosis/vaginitis.
- Detectar la presencia de coilocitos (células sugerentes de infección por HPV) y virocitos (sugerentes de infección herpética).

- Confirmar la racionalidad del VN aproximado por la lectura del fresco y el determinado por el estudio en el Gram.

3.9. Detección de *Neisseria gonorrhoeae*

Con uno de los hisopos con los que se tomó muestra de endocervix, se sembró, en forma inmediata, en Agar Chocolate y en Agar Thayer- Martin para la recuperación de *Neisseria gonorrhoeae*.

Se incubó en estufa a 35- 37°C en un ambiente enriquecido con CO₂ (5%) y humedad, por 48 horas.

La caracterización fenotípica de los aislamientos se realiza a partir de la colonia aislada conforme a técnicas convencionales de la siguiente manera:

1. Coloración de Gram: para la visualización de los diplococos Gram (-).
2. Prueba de la oxidasa
3. Prueba de la catalasa
4. Producción de ácido a partir de glucosa, maltosa, sacarosa, manosa y lactosa al 1% en medio agar tripticosa cistina (CTA) (Winn W. y col , 2008)

3.10. Procesamiento de las muestras para la realización de técnicas de amplificación de ADN

El hisopo destinado a técnicas moleculares fue recogido en un tubo de 2 ml conteniendo PBS pH 7,2. Se refrigeró por un tiempo no mayor a dos días. Luego se vortexeó y se centrifugó a 13.000g por 5 minutos. El pellet obtenido se almacenó en freezer a -20°C hasta la realización de la extracción del ADN.

3.10.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó en forma manual utilizando el kit de extracción de Machery –Nagel siguiendo las instrucciones del fabricante (Anexo III).

3.10.2. Calidad de la muestra

Para evaluar la calidad de la muestra, integridad del ADN y/o la presencia de inhibidores de las técnicas de amplificación de ADN se amplificó una porción del exón III del gen de la β -actina humana mediante la técnica descrita por Mayta H. y col, (2000) y se obtuvo un amplicón de 86 pb (Anexo III).

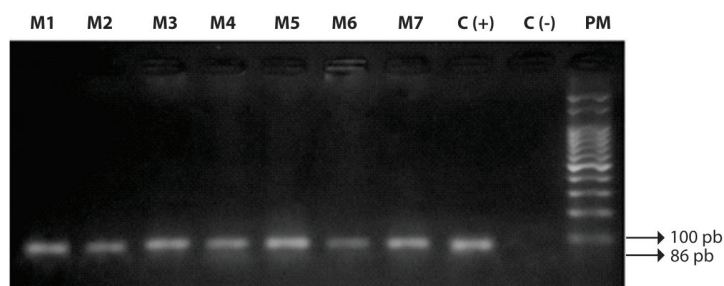


Figura 15: Fragmentos generados mediante la amplificación por PCR de una porción del exón III del gen de la β - actina (86 pb), revelada electroforéticamente en gel de agarosa al 2%. Se observa en las calles 1 a 7, amplificados con ADN provenientes de 7 muestras endocervicales; en la calle 8, control positivo; calle 9, control negativo; y en calle 10, marcador de peso molecular de 100 pb.

3.11. Detección de *Chlamydia trachomatis*

Se realizó mediante PCR utilizando el protocolo descrito por Mahony y col (1992). Se amplificó un fragmento de ADN del plásmido críptico con cebadores KL1 y KL2 específicos para el plásmido críptico.

La amplificación se llevó a cabo en un volumen final de 25 μ l que contenía una mezcla de reacción con 0,05 U de Taq polimerasa, 0,4 μ M de cada uno de los oligonucleótidos, 2 mM de Cl_2Mg , 0,2 mM de cada uno de los cuatro dNTPs, Buffer para la enzima Taq polimerasa y 10 μ l del templado.

La PCR se llevó a cabo utilizando un Termociclador Compacto Labnet, modelo MultiGene™II Personal ThermalCyclerI. Se obtuvo un amplicón de 241 pb.

La desnaturalización del ADN ocurrió a 94°C durante 5 minutos seguida de 35 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 60°C y 30 segundos a 72°C, seguidos de una extensión final de 5 minutos a 72°C.

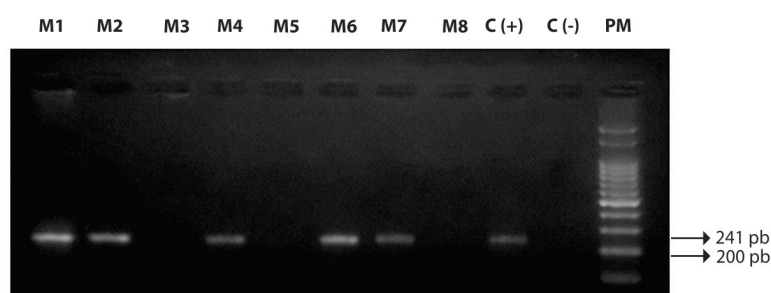


Figura 16: Fragmentos generados mediante la amplificación por PCR del plásmido críptico de *Chlamydia trachomatis* (241 pb), revelada electroforéticamente en gel de agarosa al 2%. Se observa en las calles 1 a 8, amplificados con ADN provenientes de 8 muestras endocervicales; en la calle 9, control positivo; calle 10, control negativo; y en calle 11, marcador de peso molecular de 100 pb.

Como control negativo de la PCR se utilizó la misma mezcla de reacción a la que se agregó agua ultra pura, y como control positivo ADN purificado de *C. trachomatis* ATCC L2/434/BU, cedido por el profesor Marcelo Rodríguez Fermepin, Area de Inmunología y Virología Clínica, Cátedra de Microbiología Clínica Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Los productos de amplificación se corrieron por electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio, a 120 voltios durante 30 minutos y se observaron por exposición a luz ultravioleta en un transiluminador.

3.12. Detección del Virus Papiloma Humano

Se utilizó el protocolo de Mannos y col (1989). Se amplificó una sección de 450 pares de bases del genoma viral perteneciente al fragmento L1 mediante los cebadores consenso MY 09 y MY 11.

La amplificación se llevó a cabo en un volumen final de 50 μ l que contenía una mezcla de reacción con 0,05 U de Taq polimerasa, 2 μ M de cada uno de los oligonucleótidos, 2,5 mM de Cl_2Mg , 0,5 mM de cada uno de los cuatro dNTPs, Buffer para la enzima Taq polimerasa y 10 μ l del templado.

La PCR se llevó a cabo utilizando un Termociclador Compacto Labnet, modelo MultiGene™II Personal ThermalCycler con un programa que incluía una desnaturación inicial a 94°C durante 3 minutos seguido de 35 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 50°C y 1 minuto a 72°C, con una extensión final de 5 minutos a 72°C.

Como control negativo de la PCR se utilizó la misma mezcla de reacción sometida a las mismas condiciones con el agregado de agua ultra pura, y como control positivo genoma de la línea celular CaSki, portadora de HPV16.

Los productos de amplificación se corrieron por electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio, a 90 voltios durante 20 minutos y se observaron por exposición a luz ultravioleta en el transiluminador.

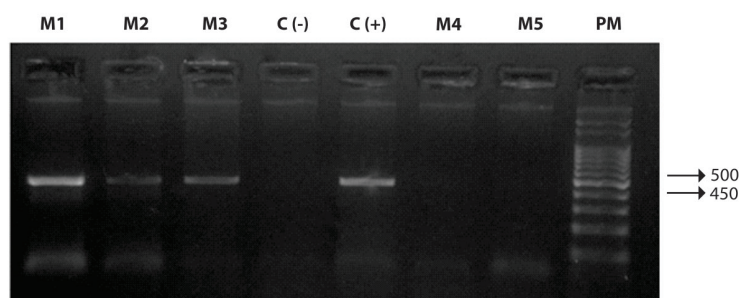


Figura 17: Fragmentos generados mediante la amplificación por PCR de la sección L1 del genoma viral del HPV (450 pb), revelada electroforéticamente en gel de agarosa al 2%. Se observa en las calles 1, 2, 3, 6 y 7, amplificados con ADN provenientes de muestras endocervicales; en la calle 4, control negativo; calle 5, control positivo; y en calle 8, marcador de peso molecular de 100 pb.

3.12.1. Detección del genotipo de HPV por el estudio del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)

A partir del producto de la PCR de la secuencia genética del fragmento L1 del HPV se realizó la digestión enzimática con las siguientes 7 enzimas, en este orden:

Bam H1, DdeI, HaeIII, HinfI, PstI, RsaI y Sau 3 AI

- 1.- Se preparó un tubo para cada enzima con 10 µl de agua. Se adicionó 6,5 µl del producto de la PCR, 2 µl de Buffer y 1,5 µl (ó 1 µl) de enzima de restricción.
- 2.- Se incubó 2- 4 hs a 37°C.
- 3.- Se analizaron los productos en un gel de agarosa al 2% en buffer TBE 1X Se sembró un control sin digerir del producto de 450 pb.
- 4.- Se corrió 60 min a 60 voltios.

De acuerdo al patrón de bandas se determinó el tipo viral. Se adjunta tabla (Anexo III).

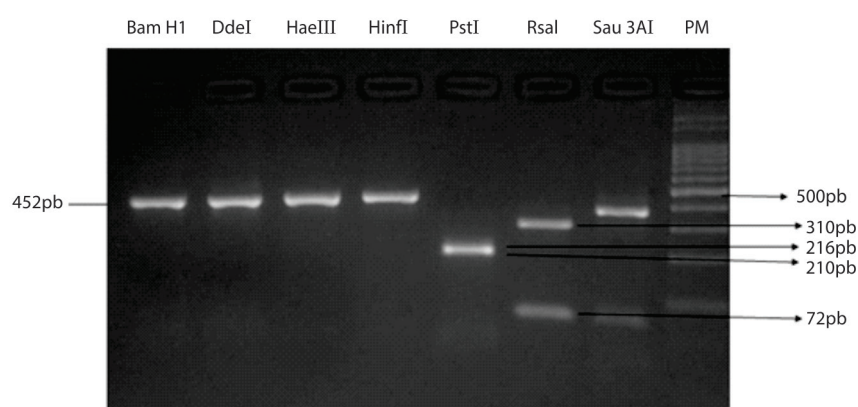


Figura 18: Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP). Se observan las bandas correspondientes a los cortes de cada una de las enzimas de restricción: BamH1 (452pb), DdeI (452pb), HaeIII (444pb), HinfI (452pb), PstI (210 y 216pb), RsaI (310pb) y Sau3AI (369pb), para el genotipo 16 del VPH. La última calle está representada por el marcador de peso molecular.

3.13. Determinación de los Valores Predictivos

Para el cálculo de los VPP y VPN se confeccionaron tablas que relacionan el resultado de una prueba diagnóstica y la presencia de infección (Esteban Hernández J. y Hernández Aguado I. 2005; Flechter R. y Fletcher S., 2007).

Se consideró al diagnóstico sintrómico de vaginosis bacteriana (en la consulta médica) como predictor de esta patología y se definió al EVB IV (obtenido utilizando la metodología BACOVA) como estándar de referencia y asumida ésta como la mejor manera disponible y ampliamente aceptada de establecer el diagnóstico de VB.

Por otra parte, se definió en este estudio a la respuesta inflamatoria vaginal como la prueba diagnóstica a evaluar. Se categorizó en forma dicotómica la prueba y se consideró un resultado negativo cuando se observaron EVBs sin RIV, es decir el EVB I o EVB III o EVB IV. Por otra parte se consideró un resultado positivo cuando se identificaron a los EVBs con RIV, es decir los EVB II o EVB V.

El evento a predecir fue la probabilidad de diagnosticar infección cuando la RIV estuviera presente en pacientes con infección confirmada por las pruebas de labora-

torio que se establecieron, en este estudio, como "gold standard" para *T. vaginalis*, *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*.

Se consideró ausencia de infección cuando las pruebas de laboratorio definidas como gold standard resultaron negativas.

	INFECCIÓN		
	Si	No	
Prueba (+)	VP	FP	Total positivos
Prueba (-)	FN	VNe	Total negativos
	Total	Total	Total

Prueba (+): suma de los EVB II y V

Prueba (-): Suma de los EVB I, III y IV

Si: prueba positiva en la identificación de *T. vaginalis* o *C. trachomatis* o *N. gonorrhoeae*

No: prueba negativa en la identificación de *T. vaginalis* o *C. trachomatis* o *N. gonorrhoeae*

VP: Verdaderos positivos

VNe: Verdaderos negativos

FP: Falsos Positivos

FN: Falsos Negativos

Por otra parte, la predicción de detectar infección por HPV utilizando los EBVs que se corresponden con alguna disfunción vaginal, es decir los EVB II, EVB III, EVB IV o EVB V se validaron frente al resultado positivo o negativo de la reacción de PCR para HPV.

Para hallar los valores predictivos, sensibilidad y especificidad se aplicaron las siguientes fórmulas:

$$VPP = \frac{VP}{VP+FP} \quad VPN = \frac{VNe}{VNe+FN}$$

$$\text{Sensibilidad (S)} = \frac{VP}{VP+FP}$$

$$\text{Especificidad (E)} = \frac{VNe}{VNe+FP}$$

Para disponer de una estimación directa de cuánto cambiará los resultados de estas pruebas en las probabilidades de padecer infección por los microorganismos cuando un resultado sea positivo se utilizó la proporción de probabilidad para un resultado positivo (LR positivo), que se expresa por:

$$\text{Pos LR} = \frac{VP / (VP + FN)}{FP / (FP + VNe)} = \frac{\text{Sensibilidad}}{1 - \text{Especificidad}}$$

Por otra parte se aplicó la proporción de probabilidad para un resultado negativo (LR negativo) que indica cuánto disminuye la probabilidad de padecer infección por los microorganismos estudiados cuando un resultado es negativo, que se expresa como:

$$\text{Neg LR} = \frac{FN / (VP + FN)}{VNe / (FP + VNe)} = \frac{1 - \text{Sensibilidad}}{\text{Especificidad}}$$

Interpretación de la proporción de probabilidad	LR Neg	LR Pos
Valor clínico similar, la prueba no es útil	1	1
Pequeña diferencia que podría ser relevante	0,2 – 0,5	2 - 5
Modesta, pero diferencia sustancial	0,1 – 0,2	5 – 10
Diferencia clínica importante, la prueba es muy útil	< 0,1	> 10

Se evaluó el uso de resultados de EVBs como prueba de laboratorio de apoyo al diagnóstico de las infecciones por *T. vaginalis*, *C. trachomatis* y HPV. Se analizó la capacidad de los resultados de los estados vaginales básicos como pruebas que permitan reducir la incertidumbre diagnóstica de estas infecciones en las pacientes. Se obtuvieron los valores predictivos y otros parámetros de exactitud diagnóstica para fundamentar la utilidad de los EVB con RIV como posible predictor de estas infecciones, en las condiciones en que se diseñó este estudio.

Al analizar los resultados de los estados vaginales básicos, como prueba de apoyo al diagnóstico de las infecciones, se adoptaron estándares de referencia.

Para identificar *Trichomonas vaginalis*, el estándar de referencia adoptado fue la técnica de observación en fresco y para la investigación de *C. trachomatis* y del HPV los estándares de referencia fueron técnicas de biología molecular. Esto resultó de considerar la mejor opción, al analizar costos y equipamiento disponible (en Laboratorios del IPS y del Departamento de Microbiología), contexto de realización del estudio e independencia en la obtención de estados vaginales básicos con las pruebas de referencia.

3.14. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos utilizados para la descripción de las características clínico epidemiológicas de las pacientes y la determinación de las medidas de frecuencia, asociación e impacto con los diferentes test estadísticos se realizaron con el programa SPSS de IBM®, Versión 21.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, EE.UU.).

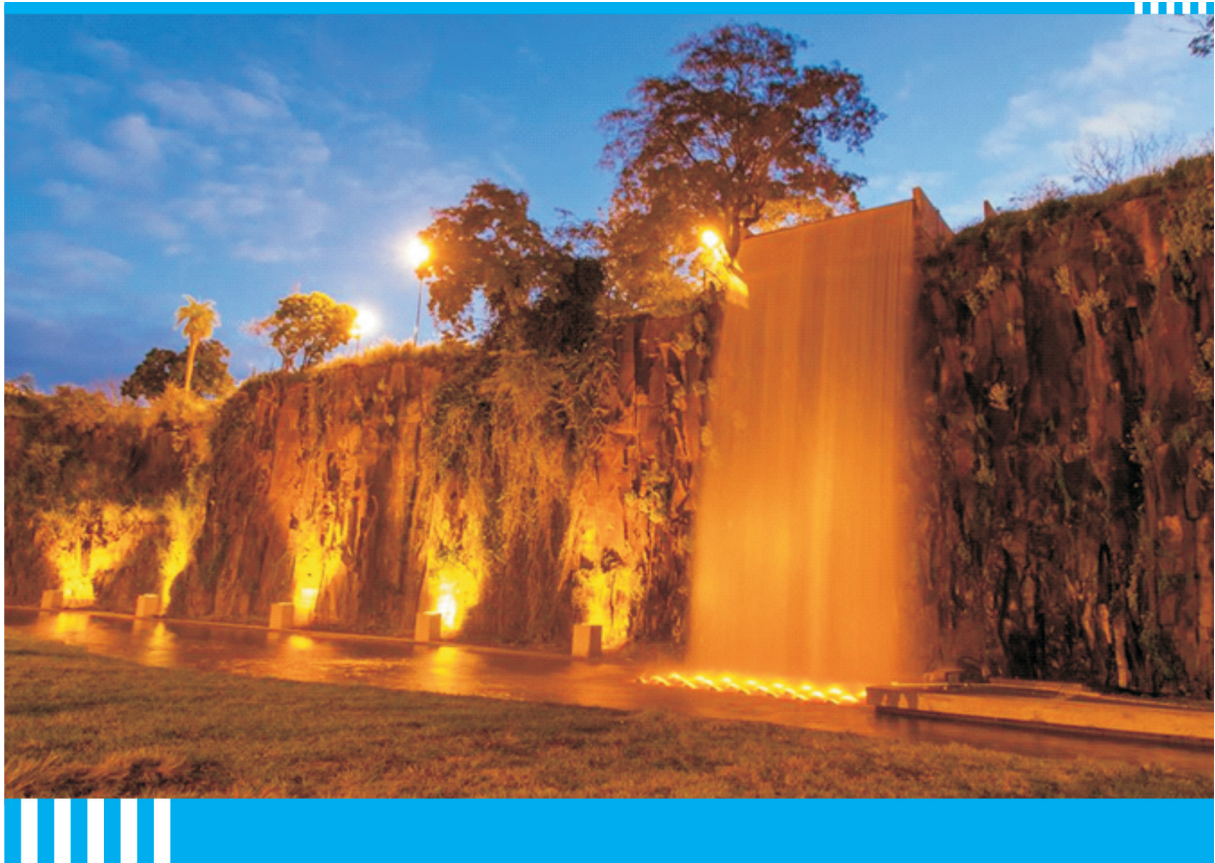
La descripción de los datos se ha hecho mediante recuentos absolutos y relativos utilizando tablas de frecuencia y gráficos. Las variables cuantitativas se han descrito mediante estadísticos de tendencia central (media) y sus correspondientes medidas de dispersión (desviación estándar). Para verificar la normalidad de una distribución se utilizó el test de Kolmogórov-Smirnov, donde se consideró que los resultados $p < 0,05$ no seguían una distribución normal.

Para la comparación de las variables continuas, si seguían la distribución normal, se utilizó el test de t-Student para dos muestras independientes y el test de ANOVA para tres o más muestras independientes. Para la comparación de variables categóricas se utilizó la χ^2 con la corrección de Yates o la prueba exacta de Fisher cuando no se cumplían las condiciones para aplicar la prueba de la χ^2 . Se calculó Odds Ratios con un intervalo de confianza de 95% utilizando regresión logística.

Los valores de p han sido considerados significativos si eran menores de 0,05.

4

RESULTADOS



Módulo Farmacia y Bioquímica (FCEQyN-UNaM)

4. RESULTADOS

Entre Octubre de 2011 y Abril de 2013 concurrieron al Laboratorio del IPS para estudios ginecológicos 4.749 mujeres por diversas causas de consulta, principalmente pacientes con síntomas y controles de rutina. Se hizo la selección de mujeres de aquellas que concurrieron por solicitud médica al servicio de microbiología del laboratorio en el turno tarde. De éstas pacientes se estudiaron muestras cervicales y vaginales a 505 (10,6%) mujeres que residían en la ciudad de Posadas.

4.1. Distribución y características de las mujeres estudiadas

Las características de la población estudiada se muestran en la Tabla 1. De las 505 mujeres del estudio, 265 (52%) manifestaron síntomas al momento de la consulta y 240 (48%) eran asintomáticas. Se estudiaron 106 (21%) mujeres embarazadas, de las cuales 57 (54%) presentaron síntomas y 49 (46%) eran asintomáticas.

La edad promedio de las mujeres en la muestra fue de 28,36 (\pm 8,21). El menor promedio de edad se observó en el grupo de embarazadas sintomáticas (26,93 años) y el mayor promedio de edad correspondió al grupo de mujeres asintomáticas no embarazadas (29,42 años).

El promedio de número de embarazos fue 1,26. El mayor promedio se observó en el grupo de asintomáticas embarazadas (1,90) y el menor promedio en el grupo de asintomáticas no embarazadas (0,96).

El número de hijos es similar en los cuatro grupos pero menor en el grupo de mujeres embarazadas sintomáticas (0,59) aunque esto no resultó estadísticamente significativo.

Se observó que la edad de inicio de relaciones sexuales declarado por las mujeres del estudio fue similar en los diferentes grupos, con un promedio de edad de 17,70 años.

Los nacimientos en pretérmino declarados por las mujeres del estudio resultó en promedio 8,51%, este porcentaje fue similar entre los diferentes grupos y levemente más elevado entre las mujeres asintomáticas no embarazadas (8,90%).

En la consulta a las mujeres sobre el número de parejas sexuales la mayoría manifestó haber tenido entre 2 y 5 parejas (52,87%), el 21,39% declaró una única pareja, una proporción similar de mujeres (20,79%) refirió haber tenido entre 6 y 10 parejas y un 4,95% manifestó más de 10 parejas en el transcurso de su vida.

El 14,65% de las pacientes entrevistadas manifestó el consumo de cigarrillos. El grupo de sintomáticas no embarazadas registró el mayor porcentaje de mujeres fumadoras (19,71%).

El método anticonceptivo oral fue el más utilizado por las mujeres del estudio (37,22%), aunque aproximadamente 1 de cada 4 mujeres manifestaron no utilizar métodos anticonceptivos (23,56%). Dos mujeres que cursaron su embarazo durante el estudio manifestaron utilizar dispositivo intrauterino.

El 78,21% de la población estudiada declaró estar conviviendo en pareja por el lapso de un año o más, anterior a la fecha de consulta. En el grupo de embarazadas la ausencia de pareja fue de 5,66%, en las no embarazadas resultó 23,55%. En el grupo de no embarazadas un 2,50% declaró parejas ocasionales. En el grupo de las embarazadas no se registraron parejas ocasionales.

Tabla N° 1: Características de la población estudiada

CARACTERÍSTICAS	SINTOMÁTICAS		ASINTOMÁTICAS		TOTAL
	Embarazadas	No Embarazadas	Embarazadas	No Embarazadas	
N° de pacientes	57	208	49	191	505
Rango de edad (años)	15-43	15-49	15-44	15-49	15-49
Edad media (años) (\pmDE¹)	26,93(\pm 8,3)	27,86 (\pm 8,6)	28,04 (\pm 7,6)	29,42(\pm 8,1)	28,36(\pm 8,2)
N° de embarazos (\pmDE¹)	1,56 (\pm 0,9)	1,05 (\pm 1,4)	1,90 (\pm 0,9)	0,96 (\pm 1,25)	1,16 (\pm 1,29)
N° de hijos, media (\pmDE¹)	0,59 (\pm 0,75)	0,89 (\pm 1,18)	0,85 (\pm 0,93)	0,83 (\pm 1,11)	0,83 (\pm 1,11)
EIRS², media (\pmDE¹)	17,80 (\pm 3,0)	17,40 (\pm 2,9)	17,90 (\pm 2,9)	18,00 (\pm 2,5)	17,70 (\pm 2,8)
Nacidos a pretérmino (%)	4 (7,01)	18 (8,65)	4 (8,16)	17 (8,90)	43 (8,51)
N° de parejas sexuales (%)					
1	18 (31,58)	46 (22,11)	10 (20,40)	34 (17,80)	108 (21,39)
2-5	31 (54,39)	104 (50,00)	31 (63,26)	101 (52,88)	267 (52,87)
6-10	8 (14,03)	43 (20,67)	5 (10,20)	49 (25,65)	105 (20,79)
>10	0 (0)	15 (7,21)	3 (6,12)	7 (3,66)	25 (4,95)
Tabaquismo (%)	4 (7,01)	41 (19,71)	3 (6,12)	26 (13,61)	74 (14,65)
Métodos anticonceptivos (%)					
Ninguno	22 (38,59)	23 (11,06)	32 (65,30)	42 (21,98)	119 (23,56)
Oral	8 (14,03)	90 (43,26)	6 (12,24)	84 (43,98)	188 (37,22)
Profiláctico	6 (10,52)	51 (24,52)	1 (2,04)	32 (16,75)	90 (17,82)
DIU ³	0 (0,00)	15 (7,21)	2 (4,08)	12 (6,28)	29 (5,74)
Otros ⁴	21 (36,84)	25 (12,02)	8 (16,32)	10 (5,23)	63 (12,47)
Ligadura de trompas	0 (0,00)	3 (1,44)	0 (0,00)	9 (4,71)	13 (2,57)
Oral-profiláctico	0 (0,00)	1 (0,48)	0 (0,00)	2 (1,04)	3 (0,59)
Estado civil (%)					
Sin pareja ⁵	1 (1,75)	47 (22,60)	5 (10,20)	47 (24,60)	100 (19,80)
Pareja estable ⁶	56 (98,24)	156 (75,00)	44 (89,80)	139 (72,77)	395 (78,21)
Pareja no estable ⁷	0 (0,00)	5 (2,40)	0 (0,00)	5 (2,62)	10 (1,98)

¹DE: Desvío estándar

²EIRS: Edad Inicio de Relaciones Sexuales

³DIU: Dispositivo intrauterino

⁴Otros: parches, inyección, espermicidas, coito interruptus

⁵Sin pareja: en los últimos 6 meses

⁶Pareja estable: 1 año o más de convivencia

⁷Pareja no estable: parejas ocasionales

4.2. Distribución de los Estados Vaginales Básicos

En la Tabla 2 se describe las frecuencias obtenidas de los estados vaginales básicos en las mujeres estudiadas. Se observó que aproximadamente una de cada tres mujeres (36,83%) presentaron microbiota normal (EVB I). La disfunción identificada con mayor frecuencia fue vaginosis bacteriana (EVB IV) con 21,38%, seguida por vaginitis microbiana inespecífica (EVB V) en 17,42% de las mujeres.

Tabla N° 2: Frecuencia de Estados Vaginales Básicos en la población estudiada

EVb*	Población estudiada (N= 505) N (%)
EVb I	186 (36,83)
EVb II	79 (15,64)
EVb III	44 (8,71)
EVb IV	108 (21,38)
EVb V	88 (17,42)

* EVB: Estados Vaginales Básicos

La Tabla 3 presenta la distribución de EVBs en las mujeres del estudio agrupadas por la presencia o ausencia de síntomas. Se observó en las mujeres sintomáticas un predominio de vaginosis bacteriana (26,41%) y vaginitis microbiana inespecífica (25,66%). Una de cada cinco mujeres que refirieron sintomatología, presentaron un estado de microbiota normal (20,75%). La presencia de síntomas en las mujeres se asoció significativamente a los estados vaginales II, IV y V con respecto a las asintomáticas, esto resultó más pronunciado en la vaginitis microbiana inespecífica (EVb V) (OR = 3,8; 95% IC 2,22-6,40). Por otra parte, la ausencia de síntomas se asoció con microbiota normal (EVb I) comparado con las mujeres con los otros EVb (OR = 0,21; 95% IC 0,14-0,32).

Tabla N° 3: Frecuencia de Estados Vaginales Básicos en mujeres sintomáticas y asintomáticas (N= 505)

EVb*	SINTOMATICAS (n= 265)		ASINTOMATICAS (n=240)		OR	IC (95%)	P -Valor
	N	%	N	%			
EVb I	55	20,75	131	54,58	0,21	(0,14-0,32)	< 0,001
EVb II	54	20,37	25	10,41	2,20	(1,32-3,67)	0,002
EVb III	18	6,79	26	10,83	0,60	(0,32-1,12)	0,108
EVb IV	70	26,41	38	15,83	1,91	(1,22-2,96)	0,004
EVb V	68	25,66	20	8,33	3,80	(2,22-6,4)	< 0,001

* EVB: Estados Vaginales Básicos, OR: Odds ratio; IC (95%): intervalo de confianza del 95%

La Tabla 4 resume la frecuencia de los EVBs en mujeres sintomáticas, asintomáticas, embarazadas y no embarazadas. Se observó, de modo similar a lo expuesto en la Tabla 3, que la microbiota normal resultó predominante en las asintomáticas estuvieran o no embarazadas (57,14% y 53,92% respectivamente). Las disfunciones vaginales (EVb II, IV, V) predominaron en las embarazadas sintomáticas, alcanzando un 80,69%, que resulta de la suma de los porcentajes de los tres estados mencionados. En las embarazadas asintomáticas las disfunciones de mayor frecuencia fueron el EVb IV (16,32%) y el EVb II (16,32%).

Tabla N° 4: Frecuencia de Estados Vaginales Básicos según síntomas y embarazo (N=505).

EVB	SINTOMÁTICAS		ASINTOMÁTICAS	
	Embarazada N (%)	No embarazada N (%)	Embarazada N (%)	No embarazada N (%)
EVB I	10 (17,54)	45 (21,63)	28 (57,14)	103 (53,92)
EVB II	24 (42,10)	30 (14,42)	8 (16,32)	17 (8,90)
EVB III	1 (1,75)	17 (8,17)	3 (6,12)	23 (12,04)
EVB IV	6 (10,52)	64 (30,77)	8 (16,32)	30 (15,70)
EVB V	16 (28,07)	52 (25,00)	2 (4,08)	18 (9,42)
TOTAL	57 (100)	208 (100)	49 (100)	191 (100)

4.3 Respuesta Inflamatoria Vaginal en la Población Estudiada

El estudio identificó 167 (33,07%) mujeres que presentaron respuesta inflamatoria vaginal (RIV). En las pacientes sintomáticas se observó mayor riesgo de RIV respecto a las asintomáticas (OR=3,7; 95% IC 2,4-5,5) (Tabla 5).

Tabla N° 5: Respuesta inflamatoria vaginal (RIV) en mujeres según síntomas

	Sintomáticas N (%)	Asintomáticas N (%)	Total N (%)	OR	IC del 95%	p valor
RIV (+)	122 (46,03)	45 (18,75)	167 (33,07)	3,7	2,4-5,5	<0,001
RIV (-)	143 (53,96)	195 (81,25)	338 (66,93)	1		
TOTAL	265	240	505			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

Se observó que entre las mujeres sintomáticas, las embarazadas presentaron RIV con más frecuencia que las no embarazadas (70,17% vs 39,42%) resultando estadísticamente significativo ($p < 0,001$) (OR=3,6; 95% IC 1,75-7,40). En contraste, entre las mujeres asintomáticas no se observó asociación estadística significativa con el estado de gravidez, aunque aproximadamente una de cada cinco mujeres asintomática y embarazada presentaron RIV (Tabla 6).

Tabla N° 6: Respuesta inflamatoria vaginal (RIV) en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo

	SINTOMÁTICAS					ASINTOMÁTICAS				
	Embarazada N (%)	No embarazada N (%)	OR	IC 95%	p valor	Embarazada N (%)	No embarazada N (%)	OR	IC 95%	p valor
RIV (+)	40 (70,17)	82 (39,42)	3,60	1,75-7,40	<0,001	10 (20,40)	35 (18,32)	1,14	0,52-2,50	0,739
RIV (-)	17 (29,82)	126 (60,58)				39 (79,59)	156 (81,67)			
TOTAL	57 (21,51)	208 (78,49)				49 (20,41)	191 (79,58)			

4.4. Comparación de los Estados Vaginales Básicos

4.4.1. Estados Vaginales Básicos asociados a daño vs no patológicos

Al analizar los EVBs I y III definidos como no patológicos (microbiota normal y microbiota levemente alterada) respecto a los EVBs II y V asociados con RIV y con el EVB IV, se observó asociación estadísticamente significativa entre las mujeres sintomáticas y los EVBs patológicos (72,45%) respecto a las asintomáticas (34,58%) ($p<0,001$). (OR =4,97; 95% IC 3,40-7,69). (Tabla 7).

Tabla N° 7: Estados Vaginales Básicos II, IV y V vs I y III, según síntomas. N=505

	SINTOMÁTICAS N° (%)	ASINTOMÁTICAS N° (%)	OR	IC	p valor
EVB II, IV y V	192 (72,45)	83 (34,58)	4,97	3,40-7,69	<0,001
EVB I y III	73 (27,54)	157 (65,41)			
Total	265 (52,47)	240 (47,50)			

Al analizar las pacientes sintomáticas y asintomáticas según su condición frente al embarazo no se halló diferencias significativas ($p=0,161$ y $0,723$ respectivamente). (Tabla 8)

Tabla N° 8: Estados Vaginales Básicos II, IV y V vs I y III en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo

	SINTOMÁTICAS					ASINTOMÁTICAS				
	Embarazadas N° (%)	No embarazadas N° (%)	OR	IC 95%	p valor	Embarazadas N° (%)	No embarazadas N° (%)	OR	IC 95%	p valor
EVB II, IV y V	46 (80,70)	146 (70,20)	0,56	0,27-1,16	0,161	18 (36,73)	65 (34,03)	0,88	0,46-1,70	0,723
EVB I y III	11(19,30)	62 (29,80)				31 (63,26)	126 (65,97)			
TOTAL	57 (21,51)	208 (78,49)				49 (20,41)	191(79,58)			

4.4.2. Comparación de Vaginosis Bacteriana vs los demás Estados Vaginales Básicos

Como se observó en la Tabla 2 el porcentaje de vaginosis bacteriana en el total de las mujeres del estudio fue 21,38%. La frecuencia de vaginosis bacteriana fue mayor en las pacientes sintomáticas (26,41%) que en las pacientes asintomáticas (15,83%) (Tabla 9). Al analizar la vaginosis bacteriana (EVB IV) respecto a los restantes EVBs se observó diferencias estadísticamente significativas entre mujeres sintomáticas y asintomáticas ($p=0,005$), (OR=1,90; 95% IC 1,22- 2,96).

Tabla N° 9: Estado vaginal básico IV vs EVBs I, II, III y V según sintomatología N=505

	SINTOMÁTICAS N° (%)	ASINTOMÁTICAS N° (%)	OR	IC	p valor
EVb IV	70 (26,41)	38 (15,83)	1,90	1,22-2,96	0,005
EVb I, II, III y V	195 (73,58)	202 (84,17)			
TOTAL	265	240			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

Sin embargo, la población de sintomáticas embarazadas presentó el 10,52% de vaginosis bacteriana comparado con el 30,77% de las sintomáticas no embarazadas, se observó diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de padecer vaginosis bacteriana respecto a los restantes estadios vaginales ($p=0,002$) ($OR=0,26$; 95% IC 0,11- 0,62) (Tabla 10).

Las pacientes asintomáticas no mostraron diferencias estadísticas significativas al analizar la vaginosis bacteriana entre embarazadas y no embarazadas ($p=0,916$) (Tabla 10).

Tabla N° 10: Estado vaginal básico IV vs EVBs I, II, III y V en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo

	SINTOMÁTICAS					ASINTOMÁTICAS				
	Embarazada N° (%)	No embarazada N° (%)	OR	IC	p valor	Embarazada N° (%)	No embarazada N° (%)	OR	IC 95%	p valor
EVb IV	6 (10,52)	64 (30,77)	0,26	0,11- 0,62	0,002	8 (16,32)	30 (15,70)	1,04	0,44- 2,45	0,916
EVb I, II, III y V	51 (89,47)	144 (69,23)				41 (83,67)	161 (84,29)			
TOTAL	57 (21,51)	208 (78,49)				49 (20,41)	191 (79,58)			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

4.4.3. Estados Vaginales Básicos IV y V vs Estados Vaginales Básicos I, II y III

Al analizar la vaginosis bacteriana (EVb IV) y la vaginitis microbiana inespecífica (EVb V) con respecto a los restantes EVBs se observó asociación estadísticamente significativa ($p<0,001$) entre sintomáticas y asintomáticas (52,07% vs 24,16%, respectivamente) ($OR=3,41$; 95% IC 2,33- 4,99) (Tabla 11).

Tabla N° 11: Estados vaginales básicos IV y V vs I, II, III según sintomatología N=505

	SINTOMÁTICAS N° (%)	ASINTOMÁTICAS N° (%)	OR	IC	p valor
EVb IV y V	138 (52,07)	58 (24,16)	3,41	2,33-4,99	<0,001
EVb I, II, III	127 (47,92)	182 (75,83)			
TOTAL	265 (52,47)	240 (47,52)			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

En las mujeres sintomáticas embarazadas el 38,60% presentaron estados alterados EVb IV o V y esto resultó inferior al grupo de sintomáticas no embarazadas (55,77%) con respecto a los restantes estadios vaginales (EVb

I, II y III) con diferencia estadística significativa. ($p=0,021$) (OR= 0,49; 95% IC 0,89-0,267).

Tabla N° 12: Estados vaginales básicos IV y V vs I, II y III en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo

	SINTOMÁTICAS					ANSITOMÁTICAS				
	Embarazada N° (%)	No embarazada N° (%)	OR	IC	p valor	Embarazada N° (%)	No embarazada N° (%)	OR	IC	p valor
EVV IV y V	22 (38,60)	116 (55,77)	0,49	0,89 - 0,27	0,021	10 (20,40)	48 (25,13)	0,76	0,34 - 1,62	0,494
EVV I, II, III	35 (61,40)	92 (44,23)				39 (79,60)	143 (74,87)			
TOTAL	57 (21,51)	208 (78,49)				49 (20,41)	191 (79,58)			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

4.5 Investigación de levaduras

El BACOVA incluye la investigación de levaduras como agente etiológico de vaginitis convencionales. El estudio detectó en 44 (8,71%) mujeres la presencia de levaduras. Se observó asociación estadísticamente significativa entre la presencia de síntomas y la identificación de levaduras ($p= 0,002$) (OR= 2,96; 95% IC: 1,46-6,00) (Tabla 13).

Tabla N° 13: Presencia de levaduras en mujeres sintomáticas y asintomáticas

	SINTOMÁTICAS N° (%)	ASINTOMÁTICAS N° (%)	TOTAL N° (%)	OR	IC 95%	p valor
Levaduras (+)	33 (12,45)	11 (4,58%)	44 (8,71)	2,96	1,46-6,00	0,002
Levaduras (-)	232 (87,54)	229 (95,41)	461 (91,29)			
TOTAL	265	240	505			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

En el grupo de las sintomáticas embarazadas la prevalencia de levaduras fue (19,30%), resultó superior a lo observado en las mujeres sintomáticas no embarazadas (10,58%). Sin embargo no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,077$). Tampoco se encontraron diferencias significativas en las asintomáticas con respecto al estado gestacional ($p=0,862$) (Tabla 14).

Tabla N° 14: Prevalencia de levaduras en sintomáticas y asintomáticas, según estado gestacional.

	SINTOMÁTICAS N= 265					ASINTOMÁTICAS N= 240				
	Embarazada N° (%)	No embarazada N° (%)	OR	IC 95%	p valor	Embarazada N° (%)	No embarazada N° (%)	OR	IC 95%	p valor
Levaduras (+)	11 (19,30)	22 (10,58)	2,02	0,91-4,46	0,077	2 (4,08)	9 (4,71)	0,86	0,18-4,11	0,862
Levaduras (-)	46 (80,70)	186 (89,42)				47 (95,92)	182 (95,29)			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

Sin embargo al analizar solamente el grupo de las embarazadas, se observó que aquellas mujeres sintomáticas en las que se identificaron levaduras presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto a las embarazadas asintomáticas ($p= 0,019$) (OR= 5,62; 95% IC: 1,34-23,55) (Tabla 15).

Tabla N° 15: Prevalencia de levaduras según estado gestacional y síntomas

	Embarazadas (n= 106)		OR	IC	p valor
	Sintomáticas N° (%)	Asintomáticas N° (%)			
Levaduras (+)	11 (19,30)	2 (4,08)	5,62	1,34-23,55	0,019
Levaduras (-)	46 (80,70)	47 (95,92)			
TOTAL	57	49			

Se observó RIV en el 65,90% de las pacientes en las que se identificaron levaduras. El análisis estadístico mostró el mayor riesgo de respuesta inflamatoria en estas mujeres respecto a las pacientes en las que no se observó levaduras ($p < 0,001$) (OR=4,52; 95% IC 2,35 - 8,70) (Tabla 16).

Tabla N° 16: Pacientes con RIV y presencia de levaduras

	RIV (+) N° (%)	RIV (-) N° (%)	TOTAL N° (%)	OR	IC 95%	p valor
Levaduras (+)	29 (65,90)	15 (34,09)	44 (8,71)	4,52	2,35-8,70	<0,001
Levaduras (-)	138 (29,93)	323 (70,00)	461 (91,28)			
TOTAL	167	338	505			

Al relacionar la presencia de levaduras con edad de las pacientes ($p=0,611$), número de embarazos ($p=0,766$), métodos anticonceptivos ($p=0,177$), edad de inicio de las relaciones sexuales ($p=0,172$), número de parejas durante la vida sexual ($p=0,449$) no se encontró asociación estadística significativa.

4.5.1. Prevalencia de levaduras en los Estados Vaginales Básicos

Se observaron levaduras en todos los EVBs, excepto en el estado de vaginosis bacteriana (EVB IV). La mayor prevalencia de levaduras se encontró en mujeres correspondientes al EVB II.

El análisis estadístico mostró asociación significativa para cada EVB al contrastar la presencia o ausencia de levaduras respecto a la suma de los restantes EVBs. La microbiota normal (EVB I) reduce la probabilidad de detección de levaduras respecto a los restantes EVBs. Se observó mayor riesgo de detección de levaduras en los EVBs II, III y V comparado con las mujeres sin levaduras en la muestra vaginal (Tabla 17).

Tabla N° 17: Distribución de levaduras y estados vaginales básicos

	Levaduras (+) N° (%)	Levaduras (-) N° (%)	OR	IC 95%	p valor
EVB I	7 (15,90)	179 (38,82)	0,30	0,13 - 0,68	0,003
EVB II	16 (36,36)	63 (13,67)	3,61	1,85 - 7,05	<0,001
EVB III	8 (18,18)	36 (7,81)	2,62	1,13 - 6,06	0,043
EVB IV	0	108 (23,42)	1,12	1,08 - 1,16	<0,001
EVB V	13 (29,54)	75 (16,27)	2,15	1,07 - 4,31	0,036
TOTAL	44 (100)	461 (100)			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

4.6. Investigación de *Trichomonas vaginalis*

El BACOVA detecta la presencia de *Trichomonas vaginalis*, uno de los agentes etiológicos responsable de vaginitis.

Del total de 505 mujeres, 14 (2,78%) resultaron infectadas con *Trichomonas vaginalis*. De las cuales 12 presentaron síntomas. La Tabla 18 muestra el mayor riesgo de las mujeres sintomáticas de haber adquirido la infección por este parásito respecto a las mujeres asintomáticas ($p=0,012$) (OR= 5,64; 95% IC 1,25 – 25,4).

Entre las mujeres embarazadas del estudio (106) se identificó una paciente infectada y sintomática.

Tabla N° 18: Presencia de *Trichomonas vaginalis* en sintomáticas y asintomáticas

	SINTOMÁTICAS N° (%)	ASINTOMÁTICAS N° (%)	TOTAL N° (%)	OR	IC 95%	p valor
<i>T. vaginalis</i> (+)	12 (4,52)	2 (0,83%)	14 (2,78)	5,64	1,25-25,4	0,012
<i>T. vaginalis</i> (-)	253 (95,47)	238 (99,16)	491 (97,22)			
TOTAL	265	240	505			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

El 78,57% de las pacientes infectadas con tricomonas presentó RIV. El análisis estadístico mostró un riesgo acentuado de las pacientes parasitadas de presentar RIV respecto a las mujeres no infectadas (OR=7,90; 95% IC 2,16 -28,6) (Tabla 19).

Tabla N° 19: Pacientes con RIV y presencia de *Trichomonas vaginalis*

	RIV (+) N° (%)	RIV (-) N° (%)	TOTAL N° (%)	OR	IC 95%	p valor
<i>T. vaginalis</i> (+)	11 (78,57)	3 (21,42)	14 (2,78)	7,90	2,16-28,6	<0,001
<i>T. vaginalis</i> (-)	156 (31,77)	335 (68,23)	491 (97,22)			
TOTAL	167	338	505			

El estudio mostró el mayor riesgo de presencia de tricomonas en mujeres con más parejas sexuales, aunque sin significación estadística significativa (chi-tendencia 3,010; $p=0,083$).

Al analizar la tricomoniasis con la edad ($p=0,215$), con el número de embarazos ($p=0,800$), con los métodos anticonceptivos ($p=0,990$) y con la edad de inicio de las relaciones sexuales de las pacientes ($p=0,844$), no se encontraron asociaciones estadísticas significativas.

4.7. Investigación de *Chlamydia trachomatis*

De las 505 mujeres estudiadas, 43 (8,51%) resultaron infectadas con *Chlamydia trachomatis*. De ellas, 30 refirieron síntomas, tales como secreción vaginal, prurito y dolor pelviano.

La Tabla 20 muestra la asociación estadísticamente significativa entre la detección de clamidias en las mujeres y la sintomatología. Las pacientes sintomáticas tienen el

doble de riesgo de estar infectadas con clamidias respecto a las pacientes asintomáticas (OR= 2,23; 95% IC 1,13 – 4,38).

Tabla N° 20: Presencia de *Chlamydia trachomatis* en mujeres según síntomas

	Sintomáticas N° (%)	Asintomáticas N° (%)	Total N° (%)	OR	IC 95%	p valor
C. trachomatis (+)	30 (11,32)	13 (5,41)	43 (8,51)	2,23	1,13-4,38	0,018
C. trachomatis (-)	235 (88,68)	227 (94,59)	462 (91,49)			
TOTAL	265	240	505			

OR: Odds ratio; CI: intervalo de confianza

Al analizar la frecuencia de *C. trachomatis* según sintomatología y estado gestacional, se puede observar que no hubo diferencias significativas ($p = 0,465$ y $p = 0,341$). Sin embargo, las embarazadas sintomáticas infectadas duplicaron a las embarazadas asintomáticas en valores absolutos.

Tabla N° 21: Presencia de *Chlamydia trachomatis* en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo

	Sintomáticas N = 265					Asintomáticas N = 240				
	Embarazada N° (%)	No embarazada N° (%)	OR	IC 95%	p valor	Embarazada N° (%)	No embarazada N° (%)	OR	IC 95%	p valor
C. trachomatis (+)	8 (14,03)	22 (10,58)	1,38	0,58-3,29	0,465	4 (8,16)	9 (4,71)	1,80	0,53-6,10	0,341
C. trachomatis (-)	49 (85,96)	186 (89,42)				45 (91,83)	182 (95,29)			
TOTAL	57	208				49	191			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

Se analizó la edad de las pacientes con *C. trachomatis* y se observó que la edad media fue de 25,6 ($\pm 6,9$). El 65,11% de las pacientes infectadas correspondió a mujeres entre 15 y 26 años. Se observó el mayor riesgo de infección por clamidias en el grupo de mujeres de menor edad. (OR= 2,12; 95% IC: 1,10 – 4,08) (Tabla 22). Este grupo etario resultó aproximadamente el 50% de las pacientes en estudio

Tabla N° 22: Distribución de *Chlamydia trachomatis* según rango de edad

Rango de edad	C. trachomatis (+) N (%)	C. trachomatis (-) N (%)	Total	OR	IC 95%	p valor
15-26	28 (65,11)	216 (46,75)	244	2,12	1,10-4,08	0,021
27-49	15 (34,88)	246 (53,25)	261			
TOTAL	43	462	505			

OR: Odds ratio; I: intervalo de confianza

Aunque se observó mayor tendencia a adquirir la infección en el grupo que inició su vida sexual antes de los 18 años, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,754$) (Tabla 23).

Tabla N° 23: Distribución de *Chlamydia trachomatis* según rango de edad de inicio de relaciones sexuales

Rango de edad de IRS*	C. trachomatis (+) N (%)	C. trachomatis (-) N (%)	Total	OR	IC 95%	P valor
13-18	34 (79,07)	331 (71,65)	365	1,47	0,69-3,16	0,317
19-33	9 (20,93)	129 (30,01)	138			
TOTAL	43 (100)	460 (100)	503			

*IRS: Inicio de relaciones sexuales

En las pacientes que se identificaron *C. trachomatis*, encontramos 20 pacientes con RIV y 23 sin RIV. Si bien se observó asociación estadísticamente significativa entre RIV y la identificación de *C. trachomatis*, el análisis de la magnitud permitió observar una tendencia hacia la asociación de clamidiasis y respuesta inflamatoria, $p=0,050$; (OR= 1,86 95% IC: 0,98-3,50).

Tabla N° 24: Distribución de *Chlamydia trachomatis* según respuesta inflamatoria vaginal (RIV)

	RIV (+) N (%)	RIV (-) N (%)	Total	OR	IC 95%	P valor
C. trachomatis (+)	20 (12,00)	23 (6,80)	43	1,86	0,98-3,50	0,050
C. trachomatis (-)	147 (88,00)	315 (93,20)	462			
TOTAL	167	338	505			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

Al analizar la presencia de *C. trachomatis* con el número de embarazos ($p=0,064$), métodos anticonceptivos ($p=0,423$), estabilidad de la pareja ($p=0,552$), y número de parejas ($p=0,110$), no se encontró asociación estadística significativa.

4.8. Investigación de *Neisseria gonorrhoeae*

En la población estudiada no se detectó presencia de *Neisseria gonorrhoeae* mediante técnicas de cultivo en medio Thayer Martin y en agar chocolate.

4.9. Investigación del Virus Papiloma Humano

Se detectaron 155 pacientes infectadas con el virus papiloma humano, lo que representó una prevalencia del 30,70%.

La Tabla 25 muestra que la presencia de HPV en las mujeres del estudio resultó similar tanto en sintomáticas como asintomáticas.

Tabla N° 25: Presencia de HPV en mujeres sintomáticas y asintomáticas

	Sintomáticas N° (%)	Asintomáticas N° (%)	Total N° (%)	OR	IC	P valor
HPV (+)	78 (29,43)	77 (32,08)	155 (30,70)	0,88	0,60-1,29	0,519
HPV (-)	187 (70,57)	163 (67,91)	350 (69,30)			
TOTAL	265	240	505			

Al analizar la presencia de HPV en pacientes sintomáticas y asintomáticas con respecto al estado gestacional no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,117$ y $p=0,661$) (Tabla 26).

En la Tabla 26 se puede observar mayor prevalencia de HPV en el grupo de las embarazadas asintomáticas (34,69%) respecto a las embarazadas sintomáticas (21,05%).

Tabla N° 26: Presencia de HPV en mujeres en sintomáticas y asintomáticas, según embarazo

	SINTOMÁTICAS (n=265)					ASINTOMÁTICAS (n=240)				
	Embarazada N° (%)	No embarazada N° (%)	OR	IC 95%	p valor	Embarazada N° (%)	No embarazada N° (%)	OR	IC 95%	p valor
HPV (+)	12 (21,05)	66 (31,73)	0,57	0,28-1,15	0,117	17 (34,69)	60 (31,41)	1,16	0,59-2,25	0,661
HPV (-)	45 (78,94)	142 (68,27)				32 (65,31)	131 (68,59)			
TOTAL	57	208				49	191			

La prevalencia de HPV aumentó con el número de parejas como se puede ver en la Tabla 27 (Chi-cuadrado de tendencia=4,018; $p=0,045$).

Si se analiza la proporción de mujeres con HPV que tuvieron sólo una pareja (23,10%), se puede observar que es significativamente menor que en las que tuvieron HPV y más de una pareja 31,50% y 35,40%.

Tabla N° 27: Prevalencia de HPV en relación con el número de parejas

	1 pareja	2 - 5 parejas	> 5 parejas	X ² de tendencia p valor
HPV (+)	25 (23,10%)	84 (31,50%)	46 (35,40%)	0,045
HPV (-)	83 (76,90%)	183 (68,50%)	84 (64,60%)	
TOTAL	108	267	130	

Al comparar la distribución del HPV entre mujeres menores de 27 años y las de esa edad o más, no se encontró diferencias estadísticamente significativas. ($p=0,079$) (Tabla 28).

Tabla N° 28: Distribución de HPV según rango de edad

Rango de edad	HPV (+) N (%)	HPV (-) N (%)	Total	OR	IC	p valor
15-26	84 (54,20)	160 (45,69)	244	1,40	0,96-2,05	0,079
27-49	71 (45,80)	190 (54,31)	261			
TOTAL	155	350	505			

Al analizar la edad de inicio de las relaciones sexuales de las pacientes, se observó mayor porcentaje de muestras positivas en el grupo que manifestó iniciarse sexualmente antes de los 18 años, aunque no resultó estadísticamente significativo, ($p=0,331$).

Tabla N° 29: Distribución de HPV según rango de edad de inicio de relaciones sexuales (N=503)

Rango de edad de IRS*	HPV (+) N (%)	HPV (-) N (%)	Total	OR	IC 95%	P valor
13-18	114 (73,49)	251 (71,90)	365	1,07	0,70-1,64	0,741
19-33	41 (26,51)	97 (28,10)	138			
TOTAL	155	348	503			

*IRS: Inicio de las relaciones sexuales.

Presentaron mayor prevalencia de HPV las mujeres que no han estado embarazadas (36,80%) que las que han tenido entre 1 y 2 embarazos (26,59%) y las que han tenido más de 3 embarazos (25,64%) ($p=0,042$).

Tabla N° 30: Prevalencia de HPV según el número de embarazos

	Ningún embarazo N (%)	1-2 embarazos N (%)	3 o más embarazos N (%)	p valor
HPV (+)	77 (36,80)	58 (26,59)	20 (25,64)	0,042
HPV (-)	132 (63,20)	160 (73,41)	58 (74,36)	
TOTAL	209	218	78	

Al analizar la presencia de HPV con respecto a la estabilidad de la pareja ($p=0,540$), métodos anticonceptivos ($p=0,138$) y tabaquismo ($p=0,123$) no se observaron diferencias estadísticamente significativas

Se realizó la genotipificación de 74 muestras. La distribución de los 15 tipos de HPV identificados se presenta en la tabla 31. Los seis tipos de HPV de bajo riesgo identificados fueron: 6, 11, 53, 57, 61 y 66, y los 9 tipos de HPV de alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 45, 58, 59 y 68.

Tabla N° 31: Distribución de genotipos de HPV

Tipo viral alto riesgo	N° (%)	Tipo viral bajo riesgo	N° (%)
16	26 (35,13)	6	8 (10,81)
18	2 (2,70)	11	4 (5,40)
31	6 (8,11)	53	2 (2,70)
33	2 (2,70)	57	1 (1,35)
35	1 (1,35)	61	8 (10,81)
45	1 (1,35)	66	2 (2,70)
58	8 (10,81)		
59	2 (2,70)		
68	1 (1,35)		
Total	49 (66,21)	Total	25 (33,78)

Los tipos de HPV de alto riesgo (66,21%) fueron hallados con mayor frecuencia en relación con los de bajo riesgo (33,78%) en las muestras genotipificadas. En 19 muestras cervicales se halló más de un tipo viral, además se observó la presencia simultánea de genotipos de alto y bajo riesgo.

4.10. Asociación entre los Estados Vaginales Básicos y los diferentes agentes etiológicos

4.10.1 Presencia de *Trichomonas vaginalis* en Estados Vaginales Básicos

La presencia de *Trichomonas vaginalis* se observó en los estadíos EVB III y V. De las 14 pacientes infectadas con tricomonas, el 21,42% pertenecían al EVB III y el 78,57% al EVB V. Se observó una fuerte asociación estadística significativa entre el EVB V y la presencia de *T. vaginalis* respecto a los otros estadíos vaginales ($p < 0,001$), OR= 19,7; 95% IC: 5,30-72,30 (Tabla 32).

Tabla N° 32: Estados Vaginales Básicos (EVB) vs presencia de *Trichomonas vaginalis*

	<i>T. vaginalis</i> (+) N° (%)	<i>T. vaginalis</i> (-) N° (%)	OR	IC 95%	p valor
EVB I	0	186 (37,88)	1,04	1,02 - 1,07	0,004
EVB II	0	79 (16,09)	1,03	1,01 - 1,05	0,102
EVB III	3 (21,42)	41 (8,35)	2,99	0,80 - 11,16	0,087
EVB IV	0	108 (21,99)	1,03	1,01 - 1,05	0,048
EVB V	11(78,57)	77 (15,68)	19,70	5,30 - 72,30	<0,001
TOTAL	14 (100)	491 (100)			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

4.10.2. Presencia de *Chlamydia trachomatis* en Estados Vaginales Básicos

De las 43 mujeres infectadas con *C. trachomatis*, el 32,56% se encontraban en el EVB I, el 9,30% en el EVB II, el 6,98% en el EVB III, el 13,95% en el EVB IV y el 37,21% en el EVB V.

La presencia de *C. trachomatis* se observó en todos los EVB teniendo significado estadístico en el EVB V ($p < 0,001$), (OR= 3,21; IC 95%: 1,64-6,25).

Tabla N° 33: Estados vaginales básicos vs presencia de *Chlamydia trachomatis* (N=505)

	<i>C. trachomatis</i> (+) N° (%)	<i>C. trachomatis</i> (-) N° (%)	OR	IC 95%	p valor
EVB I	14 (32,56)	172 (37,23)	0,88	0,42-1,58	0,544
EVB II	4 (9,30)	75 (16,24)	0,53	0,18-1,52	0,231
EVB III	3 (6,98)	41 (8,87)	0,77	0,23-2,60	0,673
EVB IV	6 (13,95)	102 (22,08)	0,57	0,23-1,40	0,214
EVB V	16 (37,21)	72 (15,58)	3,21	1,64- 6,25	<0,001
TOTAL	43 (100)	462 (100)			

OR: Odds ratio; IC: intervalo de confianza

4.10.3. Presencia del virus papiloma humano en Estados Vaginales Básicos

De las 155 pacientes con HPV el 34,83% pertenecían al EVB I, el 18,06% al EVB II, el 7,09% al EVB III, el 23,87% al EVB IV y el 16,13% al EVB V.

La presencia de HPV fue independiente de los EVBs como se puede ver en la siguiente tabla. No hubo asociación estadísticamente significativa.

Tabla N° 34: Estados vaginales básicos (EVB) vs presencia de HPV

	HPV (+) N° (%)	HPV (-) N° (%)	OR	IC 95%	p valor
EVB I	54 (34,83)	132 (37,71)	0,88	0,59-1,31	0,537
EVB II	28 (18,06)	51 (14,57)	1,29	0,78-2,14	0,319
EVB III	11 (7,09)	33 (9,42)	0,73	0,36-1,49	0,391
EVB IV	37 (23,87)	71 (20,29)	1,23	0,78-1,93	0,365
EVB V	25 (16,13)	63 (18,00)	0,87	0,52-1,45	0,609
TOTAL	155 (100)	350 (100)			

4.11. Parámetros descriptivos de pruebas diagnósticas

Las Tablas 35, 36, 37 y 38 expresan los parámetros de exactitud diagnóstica de pruebas de laboratorio utilizando el EVB IV para predecir vaginosis bacteriana y los EVB II y V para las infecciones por *T. vaginalis*, *C. trachomatis* y HPV.

Se puede observar en la Tabla 35 que el resultado de sensibilidad (64,81%) señaló, que aproximadamente 2 de cada 3 pacientes con VB fueron identificados correctamente en la consulta médica, considerando los síntomas, sin realizar pruebas de laboratorio. De las 265 mujeres definidas como sintomáticas en la consulta solo el 26,41 % (VPP) padecía VB durante la evaluación clínica.

La razón de verosimilitud positiva (Pos LR= 1,3) indicó, para este estudio, que el criterio sindrómico en la consulta incrementa 1,3 veces la probabilidad de predecir correctamente la VB entre las mujeres que la padecen y las que no.

Tabla N° 35: Parámetros descriptores de la evaluación sintomática en la consulta médica para predecir Vaginosis Bacteriana.

	VAGINOSIS BACTERIANA		
	EVB IV (+)	EVB IV (-)	
Sintomáticas	70	195	265
Asintomáticas	38	202	240
	108	397	505

Prevalencia de VB: $108/505 = 21,39\%$

Sensibilidad: $70/108 = 64,81\%$

Especificidad: $202/397 = 50,88\%$

VPP: $70/265 = 26,41\%$

VPN: $202/240 = 84,16\%$

Pos LR= $0,64/0,49 = 1,30$

Neg LR= $0,36/0,50 = 0,71$

Las Tablas 36 y 37 explican la obtención de los parámetros que describen la utilidad de los EVBs con RIV con RIV para predecir las infecciones por *T. vaginalis* y *C. trachomatis*.

Tabla N° 36: Parámetros descriptores en los EVBs con RIV para predecir infección por *Trichomonas vaginalis*

	INFECCIÓN		
	<i>T. vaginalis</i> (+)	<i>T. vaginalis</i> (-)	
EVb II + V	11	156	167
EVb I + III + IV	3	335	338
	14	491	505

Prevalencia de infección por *T. vaginalis*: $14/505 = 2,77\%$

Sensibilidad: $11/14 = 78,57\%$

Especificidad: $335/491 = 68,22\%$

VPP: $11/167 = 6,58\%$

VPN: $335/338 = 99,11\%$

Pos LR= $0,78/0,32 = 2,43$

Neg LR= $0,22/0,68 = 0,32$

Tabla N° 37: Parámetros descriptores en los EVBs con RIV en infección por *Chlamydia trachomatis*

	INFECCIÓN		
	<i>C. trachomatis</i> (+)	<i>C. trachomatis</i> (-)	
EVb II + V	20	147	167
EVb I + III + IV	23	315	338
	43	462	505

Prevalencia de Infección por *C. trachomatis*: $43/ 505 = 8,51\%$

Sensibilidad: $20/43 = 46,51\%$

Especificidad: $315/462 = 68,18\%$

VPP: $20/167 = 11,97\%$

VPN: $315/338 = 93,19\%$

Pos LR= $0,46/0,32 = 1,43$

Neg LR= $0,54/0,68 = 0,79$

En la Tabla 38 se explica la obtención de parámetros que permiten analizar la utilidad de evaluar los EVBs alterados (no microbiota normal) del BACOVA para predecir la infección por HPV.

Tabla N° 38: Parámetros descriptores en los EVBs alterados en infección por HPV

	INFECCIÓN		
	HPV (+)	HPV (-)	
EVB II+III+IV+V	101	218	319
EVB I	54	132	186
	155	350	505

Prevalencia de infección por HPV: $155/505 = 30,69\%$

Sensibilidad: $101/155 = 65,16\%$

Especificidad: $132/350 = 37,61\%$

VPP: $101/319 = 31,66\%$

VPN: $132/186 = 70,97\%$

Pos LR= $0,65/0,69 = 0,94$

Neg LR= $0,35/0,37 = 0,95$

Se obtuvieron los parámetros descriptores de exactitud diagnóstica para las pruebas mencionadas en las mujeres sintomáticas y asintomáticas (Tablas 39 y 40).

Tabla N° 39: Parámetros descriptores en los EVBs (adoptados) en sintomáticas

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	Pos LR	Neg LR
<i>T. vaginalis</i> *	91,67	56,12	9,02	99,30	2,07	0,16
<i>C. trachomatis</i> *	46,51	54,05	16,39	83,91	1	1
HPV**	80,77	21,40	30,03	72,72	1,01	0,95

*Para EVBs con RIV (EVB II y EVB V)

** Para EVBs alterados (EVB II, EVB III, EVB IV y EVB V)

Tabla N°40: Parámetros descriptores en los EVBs (adoptados) en asintomáticas

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	Pos LR	Neg LR
<i>T. vaginalis</i> *	100	81,93	4,44	100	5,26	0
<i>C. trachomatis</i> *	30,77	81,93	8,89	95,38	1,57	0,86
HPV**	49,35	56,44	34,86	70,23	1,11	0,78

*Para EVBs con RIV (EVB II y EVB V)

** Para EVBs alterados (EVB II, EVB III, EVB IV y EVB V)

5

DISCUSIÓN



Costanera de la ciudad de Posadas (Misiones)

5. DISCUSIÓN

5.1. Características de la Población

Las mujeres de este estudio integran la población de mujeres que disponen de una cobertura de salud en la obra social del IPS (Instituto de Previsión Social). El organismo ofrece cobertura sanitaria a los agentes estatales de la provincia y de los municipios de Misiones. Estas mujeres tienen acceso en la ciudad de Posadas a los servicios de atención sanitaria propios del organismo y a aquellos servicios privados que se desempeñan como prestadores y que han convenido brindar las prestaciones obligatorias definidas como Programa Médico Obligatorio (PMO) en Argentina. En este contexto también de modo gratuito y facilitado se brindan prestaciones sanitarias a las embarazadas en los programas de control prenatal.

Se estimó que la población de mujeres con cobertura sanitaria del IPS, así como las participantes de este estudio, corresponden a mujeres pertenecientes a familias con necesidades básicas satisfechas de Misiones.

A partir de los ingresos promedios de los empleados públicos y su grupo familiar se consideró, que las características socio-económicas de los sujetos del estudio resultan relativamente similares.

Al año 2015 los datos oficiales del Instituto Provincial de estadísticas y Censo de Misiones (IPEC) señalaban que en Misiones, la población femenina del Departamento Capital en Misiones era de 193.740 y que la población de mujeres en edad fértil (15 a 49 años) en la ciudad de Posadas era de 84.579.

La población de la obra social del IPS en el Departamento Capital era, al año 2015 de 105.287 afiliados, de los cuales 54.749 (52%) eran mujeres y de éstas 24.863 correspondieron al rango etario entre 15 y 49 años. (Información suministrada por el sector Informática del IPS).

El porcentaje de nacimientos en pretérmino declarados por las madres del Departamento Capital fue de (8,51%), esto resultó idéntico a lo registrado por el Sistema de Estadística e Información de Salud de Argentina para Misiones en el año 2013. www.deis.msal.gov.ar/Publicaciones/Archivos/Serie5Nro57/pdf

De la consulta realizada sobre uso de métodos anticonceptivos, el 76,43% de las mujeres manifestaron adoptar algún método, esto resultó similar a lo observado en encuestas realizadas en el NEA durante el año 2005 (75,5%), por lo tanto podría considerarse que a pesar de ser encuestas de muestras diferentes y el tiempo transcurrido (10 años), la proporción de mujeres que utilizan métodos anticonceptivos continúa resultando similar en esta región. http://www.msal.gob.ar/saludsexual/pdf/Primer_Semestre_2010_07_10.pdf

5.2. Distribución de Estados Vaginales Básicos

Al analizar la distribución de los EVBs se observó que el 36,83% correspondió a un estado normal de la función vaginal, dato que coincide con *Morales A. y col* (2010) quienes trabajaron con mujeres sintomáticas y asintomáticas del Área Metropolitana de Buenos Aires y reportaron un 30% de pacientes con microbiota normal.

Las mujeres estudiadas presentaron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los EVBs cuando se compararon las mujeres sintomáticas y las asintomáticas.

Se observó el predominio de pacientes sintomáticas en los EVB IV y V y en las mujeres asintomáticas, el EVB I. Datos similares informaron *Maritato A. y col* (2009) en un estudio realizado en la ciudad autónoma de Buenos Aires. No obstante identificamos en el grupo de mujeres sintomáticas que 55 (20,75%) no mostraban alteración morfológica del contenido vaginal. Esto pudo deberse a la apreciación subjetiva que cada paciente percibe como síntomas. *Touzón M. y col* (2014) también observaron que el 26% de las mujeres embarazadas sintomáticas presentaban microbiota normal en el contenido vaginal.

La disfunción vaginal en mujeres asintomáticas demanda un tratamiento clínico terapéutico racional y esto puede verse favorecido por el BACOVA que además permite orientar el seguimiento desde el laboratorio a la mujer en edad reproductiva y en especial a la mujer embarazada debido al riesgo de complicaciones.

En el grupo de mujeres asintomáticas embarazadas, prevaleció la microbiota normal (EVB I) en más de la mitad de los casos, 57,14%, dato similar al hallado por *Touzón M. y col* (2014) quienes informaron un 59,5% en un estudio realizado en pacientes que concurren al Hospital de Clínicas de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. En las mujeres asintomáticas no embarazadas encontramos el EVB I en el 53,92% de los casos, este resultado difiere del obtenido por *Fosch S. y col* (2011) que reportaron 35% en un grupo de mujeres asintomáticas de la localidad de Sa Pereira de la provincia de Santa Fe.

En las mujeres sintomáticas embarazadas de este estudio el EVB II alcanzó un 42,10%, cifra mayor al 17,2% reportada por *Touzón M. y col* (2014). Sigue en orden de frecuencia el EVB V con 28,07%, resultado similar al 25% reportado por *Fosch S. y col* (2011). Sin embargo se observaron porcentajes inferiores en el estudio realizado por *Di Bartolomeo S. y col* (2007) en un grupo de mujeres embarazadas sintomáticas donde obtuvieron un 4,7% para EVB V.

En el 45,4% de las mujeres asintomáticas se detectaron disfunciones vaginales. Los bajos porcentajes de valores predictivos en el diagnóstico sindrómico para distinguir vaginosis o vaginitis dan sustento a la recomendación de realizar el estudio del BACOVA, independientemente de la presencia de síntomas clínicos.

El estudio del Balance del Contenido Vaginal en la población total permitió observar que la patología hallada con más frecuencia fue la Vaginosis Bacteriana (VB) (21,38%), resultados similares fueron informados por *González-Pedraza Avilés A. y col* (2007) con 20,4%, en un trabajo realizado en Coyoacán, México y por *Llanes Rodríguez M. y col* (2014) que reportaron 18,44% en pacientes asintomáticas en una provincia de Cuba.

En la población de las pacientes sintomáticas la VB ascendió a 26,41% estos valores difieren significativamente de los observados por *Morales A. y col* (2008) que informaron 41% y al 13% obtenido por *Fosch S. y col* (2011) en pacientes sintomáticas.

De las 108 mujeres que tenían VB, 14 (13%) estaban embarazadas. De éstas, 6 (10,52%) eran pacientes embarazadas sintomáticas, este dato difiere de *Touzón M. y col* (2014) que hallaron un 38%, de *Di Bartolomeo S. y col* (2001) que informaron

15,1% en embarazadas sintomáticas con VB. Por otra parte, en las sintomáticas no embarazadas de este estudio el porcentaje de VB se elevó a 30,76%. En las pacientes asintomáticas de este estudio no hubo diferencias significativas entre embarazadas y no embarazadas respecto a VB.

En Estados Unidos, la tasa de VB en embarazadas es de aproximadamente 16%, siendo diferente este número según grupo racial: 23% en mujeres afroamericanas, 6% en mujeres asiáticas y 4% en mujeres blancas. En Chile, la prevalencia de VB varía entre 27 y 32% en la población general, cifra que se duplica en mujeres con parto prematuro o enfermedad inflamatoria pélvica (Pradenas M., 2014).

En las pacientes del estudio encontramos 88 (17,42%) mujeres con Vaginitis Microbiana Inespecífica (VMI), pero en las pacientes sintomáticas el porcentaje ascendió a 25,66%, de modo similar en el estudio de *Maritato y col* (2009) se observó un 14% con VMI, este porcentaje se incrementaba al 18% entre las mujeres sintomáticas de ese estudio.

Por otra parte al analizar el grupo de embarazadas sintomáticas con VMI se observó que el 28,07% eran afectadas por este padecimiento, esto resultó significativamente superior al comparar con lo observado en el estudio de *Touzon y col* (2014) (18,8%).

En la población de mujeres analizadas, la RIV estuvo presente en 167 casos (33,07%), porcentajes similares aunque levemente superiores fueron observados por *Fosch S. y col* (2011) (40%) en una población de mujeres asintomáticas. En contraste nuestras observaciones fueron significativamente superiores al 19% reportado por *Maritato A. y col*, 2009 en un estudio de mujeres sintomáticas y asintomáticas en edad fértil.

La RIV fue superior y estadísticamente significativa en las pacientes sintomáticas (46,04%) respecto a las mujeres asintomáticas (18,75%) ($p < 0,001$). (OR=3,7; 95% IC 2,4-5,5). Del mismo modo se observaron porcentajes superiores y significación estadística al analizar mujeres sintomáticas embarazadas con RIV respecto a aquellas sintomáticas no embarazadas (70,18% vs 39,42%). ($p < 0,001$). (OR=3,6; 95% IC 1,75-7,40).

En la práctica clínica es difícil distinguir entre vaginosis y vaginitis, por ello la implementación del BACOVA como prueba de tamizaje es útil para diferenciar estos estados.

En los casos que se observe respuesta inflamatoria y no se detecte levaduras ni *T. vaginalis* por BACOVA, se debería investigar la presencia de *C. trachomatis*, especialmente en los grupos de embarazadas y de pacientes sintomáticas donde el diagnóstico daría inicio a un tratamiento precoz que reduciría el riesgo de complicaciones por esta bacteria. Esta estrategia permitiría además evitar la diseminación de la infección.

5.3. Detección de levaduras

La vulvovaginitis por *Candida* es una de las afecciones vulvovaginales más frecuentes. Al menos el 75% de las mujeres refiere un cuadro único de candidiasis vulvovaginal y entre 40 y 45% pueden presentar dos o más episodios en su vida (Sobel J. y col, 2004). Su agente causal, en el 90% de los casos, corresponde a *Candida albicans*.

Se diagnosticaron 44 casos de infección por levaduras, lo que correspondió al 8,71% del total, un porcentaje similar informaron *Morales G. y Yanet M.* (2012) en un estudio realizado en la ciudad de Valledupar, Colombia, en mujeres sintomáticas, aunque significativamente inferior a lo observado en los estudios de *Fosch S. y col* (2011) que informaron un 32%.

En estudios de infección por levaduras en embarazadas los porcentajes obtenidos por *Di Bartolomeo S. y col* (2007) fueron de 20,70% y *Touzón M. y col* (2014) de 19,05%, esto resultó similar a lo observado en este estudio (19,30%).

Se demostró en los últimos años que la agresión de levaduras al epitelio y la piel de la región vagino-vulvar se asocia a una alteración sistémica (inmunohormonal) de la paciente y no necesariamente a un factor de virulencia específico de la levadura participante. Esto indicaría que las alteraciones inmunohormonales que condicionan la vulvovaginitis son diferentes a las que generan Vaginosis Bacteriana, por lo que sería mínima o nula la asociación de levaduras en el EVB de Vaginosis Bacteriana (Guía Práctica Integral de diagnóstico de vaginosis- vaginitis en la atención primaria de la mujer en edad fértil. Actualización 2011).

En nuestro estudio no se encontró pacientes con levaduras y que estuvieran incluidas en EVB IV.

El mayor porcentaje de levaduras se encontró en el EVB II, lo que indica una marcada asociación de la presencia de levaduras con el estado de normalidad de la microbiota vaginal (*Di Bartolomeo S. y col*, 2007). El segundo lugar se ubica en el EVB V, ambos con respuesta inflamatoria manifiesta.

El 65,90% de las pacientes infectadas con levaduras de nuestro estudio presentaba RIV, este resultado fue superior al 52% observado por *Fosch S. y col* (2011). Se observó asociación estadística entre la presencia de levaduras y la RIV ($p < 0,001$), (OR=4,52; 95% IC 2,35 - 8,70).

De las 44 mujeres con levaduras el 15,90% pertenecía al EVB I, el 36,36% al EVB II, el 18,18% al EVB III y el 29,55% al EVB V. En todos los casos se observó asociación estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los EVBs y la presencia de levaduras.

C. albicans es una de las levaduras saprofíticas, que puede actuar como agente patógeno oportunista en determinadas circunstancias, entre ellas, el embarazo. Esta levadura está asociada, no solamente con altos índices de colonización, sino también con altos índices de infección y recurrencias debido a los cambios hormonales, caracterizados por aumento de la producción de estrógenos que producen a su vez mayor concentración de glucógeno vaginal, y sumado a esto, la supresión de la inmunidad celular (*Duff P.*, 2014).

La prevalencia de *Candida albicans* en mujeres gestantes varía de 2 a 40%, en mujeres asintomáticas puede ser hasta de 12% y en sintomáticas hasta del 40%; existe mayor riesgo en el grupo de edad de 21 a 30 años (*Akinbiyi A. y col*, 2008) y en mujeres multigestantes y diabéticas (*Parveen N. y col*, 2008).

Morales G. y Yaneth M., (2012) reportaron que el factor de riesgo predominante para adquirir la vulvovaginitis por *C. albicans* es el embarazo (80%), encontrándose especialmente en mujeres en periodo de gestación entre las 32 a 38 semanas.

En resumen, el estudio mostró que la frecuencia de infección por levaduras fue

mayor en mujeres sintomáticas (12,45%) y embarazadas con síntomas (19,30%). Las infecciones por levaduras predominaron ampliamente en los estados vaginales caracterizados por respuesta inflamatoria EVB II (36,60%) y EVB V (29,54%).

5.4. Detección de *Trichomonas vaginalis*

En este estudio 2,77% de las mujeres resultaron infectadas con *Trichomonas vaginalis*. Este valor fue similar al encontrado por *Llanes Rodríguez M y col* (2014) que informaron 2,8% en una población de pacientes asintomáticas de dos municipios de Cuba, pero difiere de los datos reportados por *Bologno R. y col* (2008) que estudiaron una población de mujeres que concurrieron a control ginecológico donde hallaron un 12% en Comodoro Rivadavia, Chubut.

La detección de tricomonas predominó en el grupo de pacientes sintomáticas resultando el 4,5% (12/265) de este grupo, de éstas una paciente estaba embarazada (1/57, 1,7%). Sin embargo *Di Bartolomeo S. y col* (2007) reportaron una prevalencia de 2,4% de tricomonas en mujeres embarazadas sintomáticas.

Utilizando diferentes métodos de diagnóstico, *Perazzi B. y col* (2007) identificaron *T. vaginalis* en el 4,5% de mujeres embarazadas sintomáticas y asintomáticas, cultivando el material clínico en medio líquido y sólido. Sin embargo realizando el examen en fresco detectaron el parásito en el 1,9% de las pacientes.

Es posible que utilizando pruebas reconocidas de mayor sensibilidad o una combinación de éstas, respecto al examen en fresco, en nuestro estudio se podría haber incrementado la prevalencia de infección por tricomonas.

De las pacientes con tricomoniasis, el 21,42% (3/14) correspondió al EVB III y el 78,57% (11/14) al EVB V, hallándose asociación estadística significativa ($p < 0,001$) en éste último. Sin embargo *Touzón M. y col* (2014) informaron en mujeres embarazadas asintomáticas la presencia de tricomonas asociadas al EVB I y en las embarazadas sintomáticas, asociación con los EVB IV y V.

De las 14 pacientes diagnosticadas con *T. vaginalis* 12 (85,71%) refirieron sintomatología. Se observó el mayor riesgo de tricomoniasis en mujeres sintomáticas respecto a las asintomáticas con diferencias estadísticamente significativas. ($p = 0,012$) (OR= 5,64; 95% IC 1,25 – 25,4). *Perazzi B. y col.* (2007) informaron que de 10 pacientes embarazadas con tricomoniasis 5 presentaron síntomas en un estudio realizado en el Hospital de Clínicas de la CABA. En tanto que *Mo L. y col.* (2003) reportaron que de 88 mujeres con tricomoniasis el 78% presentó síntomas en un estudio realizado en la ciudad de Auckland (Nueva Zelanda).

En este análisis se observó una tendencia de mayor porcentaje de mujeres con tricomoniasis conforme aumentaba el número de parejas referidas por éstas en las entrevistas. Si bien la asociación no resultó estadísticamente significativa ($p = 0,083$), se observó que el 50% de las mujeres con tricomoniasis refirieron haber mantenido relaciones sexuales con más de 5 parejas en el transcurso de su vida.

En este sentido, en un estudio realizado en Taiwán realizado por *Wang PD y Lin RS* (1995) mostraron que múltiples parejas sexuales (más de una) resultan un factor de riesgo en la infección por *T. vaginalis*, OR= 5,07 y $p = 0,001$.

El 78,6% de las pacientes infectadas con tricomonas presentó RIV observándose asociación estadísticamente significativa ($p < 0,001$). Al analizar el riesgo de tricomoniasis en las pacientes con RIV se observó que éste era casi 8 veces superior al riesgo de padecer tricomoniasis en pacientes sin RIV (OR=7,9; 95% IC 2,16 -28,6).

5.5. Detección de *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis es actualmente la bacteria identificada con mayor frecuencia entre los agentes etiológicos asociados a las infecciones de transmisión sexual. Sin embargo, la frecuencia de identificación presenta una amplia variación, debido principalmente a la metodología empleada en el diagnóstico de laboratorio, al tipo de población analizada, el nivel socioeconómico, lugar de estudio, etc.

En 2014, un total de 1.441.789 casos de infección por *Chlamydia trachomatis* se reportaron al CDC. Este recuento de casos corresponde a una tasa de 456,1 casos por 100.000 habitantes, un aumento de 2,8% en comparación con la tasa en 2013 (CDC, 2015).

En nuestro estudio, utilizando la técnica de PCR para la amplificación del plásmido críptico, observamos una prevalencia del 8,51%. Estos resultados son similares al 7,7% obtenido por Arraiz N. y col en un trabajo realizado en 2008 en mujeres sintomáticas y asintomáticas de la ciudad de Maracaibo, Venezuela, diagnosticadas por amplificación del plásmido críptico y del gen *omp A*. Sin embargo Santos C. y col (2002) reportaron una frecuencia superior (20,7%) en un estudio realizado a 121 mujeres sexualmente activas, en Manaus (Brasil).

Un estudio realizado en 2012 en la ciudad de Córdoba por Cuffini C. y col, para una población de mujeres asintomáticas, mostró una prevalencia de 13,7% para *C. trachomatis* mediante PCR para plásmido críptico. Sin embargo, este porcentaje hace referencia a un rango de edades más acotado, considerando solamente a pacientes entre 18 y 24 años. En este estudio se encontró una prevalencia de 10,11% para ese rango etario.

Por otra parte, una prevalencia mayor, del 20,4%, fue reportada en 2009 por Sánchez Monroy V. y col, quienes estudiaron una población abierta de mujeres con una edad media de 34,2 años, en la Ciudad de México, mediante técnicas moleculares.

Si bien en la provincia de Misiones no se disponen de estudios publicados que indiquen la prevalencia de *C. trachomatis*, existe un trabajo realizado en una muestra de mujeres residentes en provincias vecinas del nordeste argentino, Chaco y Corrientes. En dicho estudio, analizaron 189 muestras de cepillado endocervical correspondiente a mujeres sexualmente activas con un rango de edad entre 16 y 58 años. Allí se observó que la prevalencia de *C. trachomatis* fue del 24,9% mediante amplificación de plásmido críptico. Sin embargo, es necesario aclarar que las muestras analizadas correspondieron a mujeres en las que previamente se observaron alteraciones citológicas en el epitelio cervico-uterino (Deluca G. y col, 2006).

Di Bartolomeo S. y col (2001) trabajaron con 198 embarazadas sintomáticas en el gran Buenos Aires y encontró un 2,5% de muestras positivas. La técnica empleada fue inmunocromatografía y los resultados confirmados por PCR.

Un trabajo presentado por Monetti M. y col (2013) reveló una prevalencia de 7,52% en mujeres infértiles de la ciudad de Córdoba. La metodología utilizada fue amplifica-

ción del plásmido críptico por PCR.

Las variaciones en las frecuencias de detección de *C. trachomatis* por técnicas moleculares podría estar asociada a las secuencias blanco utilizadas en la PCR. Inicialmente Mahony J. y col (1993) demostraron que la amplificación del plásmido críptico resulta entre 10 a 1.000 veces más sensible que aquellas técnicas basadas en la secuencia cromosómica bacteriana. Más recientemente Monetti M. y col (2013) informaron que la detección del plásmido críptico fue significativamente más alta ($p < 0,0001$) que la amplificación del *gen omp A* por PCR hemi Nested.

En la literatura consultada muchos autores refieren que existe mayor prevalencia de *C. trachomatis* en jóvenes menores de 25 años de edad. (Franzini L. y col, 2004). Más del 13,5% de las mujeres menores de 25 años presentaron infección en tracto genital bajo, y este porcentaje disminuyó a 4,9% en mayores de 25 años (Cuffini C. y col, 2012).

La edad media de las pacientes infectadas en nuestra población fue de $25,6 \pm 6,9$. Se observó mayor número de casos (65,1%) en el rango etario comprendido entre 15 y 26 años ($p = 0,021$), lo que concuerda con otros autores (Deluca G. y col, 2006, Arráiz N. y col, 2008). Santos C. y col (2003) informaron que el 80% de los casos positivos de su estudio correspondían a mujeres menores de 23 años. En nuestro estudio se observó un riesgo de infección por clamidias superior al doble en el grupo de mujeres más jóvenes ($OR = 2,12$; 95% IC: 1,10 – 4,08).

Se ha demostrado que la mayor prevalencia de *C. trachomatis* recae sobre la población más joven. Esto podría explicarse biológicamente por la diferencia anatómica en la unión escamoso-columnar del cérvix que está evertida y expuesta favoreciendo así la infección (Black C., 1997). Sin embargo, consideramos que otros factores importantes serían: una mayor actividad sexual en los jóvenes, múltiples parejas sexuales, nueva pareja sexual y la falta de uso de preservativos, aumentando así la diseminación de la infección por *C. trachomatis* en este grupo etario.

Si bien el inicio de relaciones sexuales de manera temprana también incide en la frecuencia hallada de infecciones por clamidias (Al-Thani A. y col, 2013, Rodríguez Fermepin M., 2006), en nuestro estudio, el 79,07% de la población había iniciado sus relaciones sexuales entre los 13 y 18 años. Aun así no se halló diferencias significativas ($p = 0,317$). Occhionero M. y col (2015) tampoco encontraron diferencias significativas al estudiar una población de jóvenes ingresantes a la Universidad en la ciudad de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires.

La bibliografía, en general, hace referencia a que la infección por clamidias cursa de manera asintomática, en muchos casos. (Monetti M. y col 2013, Deluca G. y col 2006, Silva R. y col, 2013). Sin embargo en este estudio el 69,77% de las pacientes infectadas por *C. trachomatis* refirieron síntomas. Al analizar estas mujeres respecto a las asintomáticas se encontró diferencia estadística significativa ($p = 0,018$).

El riesgo potencial es que las mujeres asintomáticas no sean diagnosticadas y, por ende, no sean tratadas; permitiendo de este modo que la bacteria pueda ascender e infectar el tracto genital alto, y así causar enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), llevando a largo plazo, a mayores complicaciones, como ser infertilidad y embarazo ectópico (Mackern-Oberti J.P. y col, 2013).

Entre el 2 y el 4,5% de las mujeres infectadas no tratadas pueden llegar a pa-

decer EIP. Además ha sido reportado que la incidencia de lesión tubárica se incrementa con las reinfecciones, siendo de aproximadamente 12% después del primer episodio de infección, y entre 23 a 54% en los episodios posteriores (López Castro T. y col, 2012).

Con respecto a la RIV encontramos 20 pacientes con RIV y presencia de *C. trachomatis*, lo que representa un 46,51% del total de mujeres infectadas. Esta bacteria provoca que el endocérvix a veces se muestre enrojecido, con un exudado mucoso poco purulento. Los serotipos D-K aislados de *C. trachomatis* no son invasivos y tampoco penetran o invaden las submucosas sino que permanecen en la superficie luminal del epitelio (Darville T., 2013).

Aunque los porcentajes de mujeres infectadas con *C. trachomatis* con y sin RIV son similares, al analizar, se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,05$), aunque no resultó de magnitud suficiente para dimensionar el riesgo de la presencia de esta bacteria y la respuesta inflamatoria ($OR= 1,86$ 95% IC: 0,98-3,5). Esto podría deberse al tamaño insuficiente de mujeres con clamidias en este estudio y/o el diseño del mismo que incluye proporciones similares de mujeres sintomáticas y asintomáticas. En la práctica clínica, la recomendación de investigar *C. trachomatis* en presencia de RIV es un enfoque preventivo de importancia.

Es conocido que el número de parejas sexuales es un indicador de riesgo para adquirir infecciones de transmisión sexual. Sin embargo en nuestra población no encontramos asociación estadística significativa ($p=0,11$).

En la población de mujeres estudiadas, 106 presentaron embarazo al momento de la toma de muestra, resultando positivas para *C. trachomatis* 12 pacientes, lo que corresponde un 11,32%. Valor superior al informado por Di Bartolomeo S. y col (2001) quienes reportaron un 2,5% en mujeres embarazadas sintomáticas. Mientras que Ovalle A. y col (2012) en un estudio en Chile de mujeres embarazadas seleccionadas al azar encontraron un 5,9%. Se destaca su importancia por el alto riesgo de infección neonatal.

Debido a las complicaciones de la enfermedad y los riesgos asociados con la infección, el CDC recomienda que todas las mujeres sexualmente activas menores de 25 años de edad reciban anualmente un cribado para la detección de clamidias.

Este trabajo es el primer aporte en el campo de la epidemiología de *C. trachomatis* en la provincia de Misiones. No existe bibliografía con datos para la región que indiquen la frecuencia de aparición de esta bacteria en diferentes poblaciones de mujeres. Esto contribuye a evidenciar la importancia de realizar el diagnóstico oportuno con métodos de elevada sensibilidad favoreciendo tratamientos tempranos, para reducir el riesgo de diseminación del agente y evitar complicaciones más graves.

5.6. Detección de *Neisseria gonorrhoeae*

No se obtuvo desarrollo de *Neisseria gonorrhoeae* al investigar las 505 muestras de las participantes del estudio.

Las tasas de prevalencia de gonococia en la región, han disminuido constantemente en los últimos 30 años.

En Posadas, Provincia de Misiones, se realizó un estudio en 233 embarazadas en el tercer trimestre, sintomáticas y asintomáticas que acudieron al Hospital Dr. Ramón Madariaga y no se detectó *N. gonorrhoeae*. (Leguizamón L. y col, 2008).

En el laboratorio del Instituto de Previsión Social de Misiones, entre los años 2010 y 2015 no se ha aislado esta bacteria en ninguna de las 15.000 muestras de secreciones endocervicales de mujeres estudiadas.

Susana di Bartolomeo y col (2002) informaron que no hallaron *N. gonorrhoeae* en un estudio realizado en los años 1997 y 1998 en muestras clínicas de mujeres adolescentes y adultas sintomáticas que concurrieron a un hospital público del Gran Buenos Aires.

Ovalle A y col (2012) analizaron 255 muestras cérvico-vaginales de mujeres embarazadas que concurrieron al hospital público de la región metropolitana de Chile y no encontraron *N. gonorrhoeae*, informaron además que estos resultados negativos se registran anualmente en ese establecimiento desde 1990.

Un estudio en Gran Bretaña donde trabajaron con 4550 personas de ambos sexos con un rango de edad comprendido entre 16 y 74 años en los años 2011 y 2012 reveló una prevalencia menor al 0,1% utilizando muestras de orina. (Sonnenberg P. y col, 2013)

En España, en Cataluña han trabajado con 400 mujeres trabajadoras sexuales, españolas e inmigrantes y han encontrado una prevalencia de *N. gonorrhoeae* del 0,5%, en 2005 (Folch C. y col, 2009).

En Estados Unidos en 2009, la tasa nacional de casos de gonorrea reportados alcanzaron un mínimo histórico de 98,1 casos por 100.000 habitantes Sin embargo, durante 2009-2012, la tasa aumentó levemente cada año, a 106,7 casos por 100.000 habitantes en 2012. En 2013, la tasa disminuyó a 105,3 casos por 100.000 habitantes. Pero en 2014, se informaron un total de 350.062 casos de gonorrea, y el índice nacional de gonorrea a 110,7 casos por 100.000 habitantes.

El incremento en la tasa de gonorrea durante 2013 – 2014 se observó principalmente entre los hombres que tienen sexo con hombres. (CDC, 2015)

5.7. Detección de Virus Papiloma Humano

Los resultados de este trabajo permitieron detectar una prevalencia de la infección cervical por HPV del 30,69%, en la población de mujeres estudiadas.

Es difícil establecer estimaciones referidas a la cantidad de mujeres portadoras de infecciones ocultas por HPV. Muchas personas se infectan con el virus productor de verrugas durante su vida sin presentar síntomas. Las alteraciones en el epitelio pueden ser tan leves que la infección no se reconoce. Los HPV pueden permanecer latentes en las capas epiteliales de la piel o las mucosas (Androphy E., 2013).

Mediante técnicas altamente sensibles como Hibridación Molecular o PCR, puede considerarse que aproximadamente la prevalencia de HPV en la población femenina es inferior al 10% en los países desarrollados y ligeramente superior al 15% en los países en vías de desarrollo (Bosch José F. y col, 2006).

En algunos países europeos como Francia e Italia han sido descritas prevalencias elevadas, 45,3% y 68,9% respectivamente (Pannier-Stockman C. y col, 2008; Bello B. y col, 2009).

La prevalencia de la infección por HPV se caracteriza en América Latina por valores cercanos a 25-30% antes de los 25 años. (Almonte M. y col, 2010).

Según los datos de la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC), se observa que la prevalencia de HPV varía según las áreas geográficas, siguiendo una distribución similar a la de la prevalencia de cáncer de cérvix.

Nuestros hallazgos coincidieron con lo reportado por *Sotlar K. y col* (2004), quienes obtuvieron un 34,7% de prevalencia en mujeres sin lesiones compatibles con neoplasia cervical intraepitelial en un estudio realizado en Alemania. Otro estudio llevado a cabo en el departamento de Cauca, Colombia, que incluía tanto población urbana como rural, la prevalencia viral fue del 39% (Camargo Pinzón S., 2011).

Un trabajo elaborado en la Ciudad de Córdoba encontró una prevalencia del 51,6%, pero la población estudiada incluía a mujeres de 18 a 65 años con antecedentes de lesiones intraepiteliales escamosas (Venezuela R. y col, 2012).

El estudio realizado por *Tonon S. y col* (2003) encontró una prevalencia del 43% en mujeres seleccionadas aleatoriamente y residentes en ciudades de la provincia de Misiones. En tanto que datos obtenidos de *Badano I. y col* (2011), mostraron una prevalencia de infección de HPV del 38% en mujeres de bajos recursos de la ciudad de Posadas (Misiones). Podría afirmarse que los valores de prevalencia de infección por HPV en mujeres permanecen relativamente estables en la última década en la provincia de Misiones, considerando incluso poblaciones de diferente rango etario y nivel social.

De las 155 muestras positivas se logró genotipificar 74 de ellas, esto pudo deberse a que las muestras presentaban una carga viral baja, manifestado por la débil intensidad observada en las bandas de precipitación en gel de agarosa que imposibilitaron una resolución eficaz por la técnica de RFLP.

Los tipos virales hallados en la población estudiada coincidieron, en rasgos generales, con los virus más prevalentes en la población mundial (*Badano I. y col*, 2011; *Sotlar K. y col*, 2004; *Tonon S. y col*, 2003; *Venezuela R. y col*, 2012; *Camargo Pinzón S.*, 2011). Se hallaron 15 genotipos diferentes en este estudio, similar a lo obtenido por *Badano I. y col* (2011) que hallaron 14 diferentes tipos virales y a *Venezuela R. y col* (2012) que encontraron 18 tipos diferentes. En nuestra región *Tonon S. y col* (2003) reportaron 11 genotipos diferentes y *Deluca G. y col* (2012) informaron 21 genotipos hallados.

Los tipos virales de alto riesgo mostraron mayores prevalencias (66,21%) respecto a aquellos que correspondieron a bajo riesgo (33,78%). El HPV16 fue el más frecuente coincidiendo con trabajos reportados por *Badano I. y col*, (2011), *Venezuela R. y col*, (2012) y *Deluca G. y col*, (2012), entre otros, en nuestro país así como en la literatura global. Como representantes de tipos de HPV de alto riesgo encontramos 35,13% de HPV16, esto resultó similar al 35%, informado por *Abba M. y col* (2003) en un estudio en La Plata. En segundo lugar se observó el HPV 58 (10,81%) y luego en orden de frecuencia el HPV 31.

Llama la atención el hallazgo del 10,81% del genotipo HPV 58, lo que no es habitual encontrar en la bibliografía consultada en nuestro país (Badano I. y col, (2011) y Venezuela R. y col, (2012). Sin embargo, *Clifford G.*, (2005) en un estudio que incluyó mujeres de 13 áreas de 11 países, informó que en Sudamérica el segundo tipo viral más frecuentemente encontrado fue el HPV 58 con una prevalencia de 7%. En un estudio en Paraguay también hallaron el HPV 58 en segundo lugar (Mendoza L. y col, 2012).

Camargo Pinzón S., (2011) en un estudio realizado en tres ciudades de Colombia, informó que sus resultados mostraron al HPV 31 como el segundo en frecuencia luego del HPV 16; este tipo viral también ha sido reportado como el segundo más prevalente en Europa (*Clifford G.*, 2005)

Con respecto a los tipos de bajo riesgo, los más frecuentemente hallados en nuestro estudio fueron el HPV 6 (10,81%) y HPV 61 (10,81%), mientras que *Abba M. y col* (2003) informaron 27% de HPV 6, *Venezuela R. y col* (2012) reportaron un 21,9% de HPV 6 y en segundo lugar el HPV 11 (8,3%), en tanto que *Deluca G. y col* (2012) solamente encontraron el 5,3% de HPV 6 en un estudio de mujeres aborígenes del nordeste de Argentina y *Tonon S. y col* (2003) reportaron el 12% de HPV 6.

Es reconocido que factores como, alta paridad, inicio temprano de las relaciones sexuales, tabaquismo, métodos anticonceptivos, uso de profiláctico, son parámetros que influyen en el número de mujeres infectadas por HPV. Sin embargo en este trabajo no se hallaron asociaciones estadísticamente significativas con esos factores de riesgo estudiados, a diferencia de lo observado por otros autores.

El trabajo de *Bosch José F. y col* (2006), observó asociación entre la paridad, la utilización de anticonceptivos orales y el tabaquismo. También el reporte de *Tonon S. y col* (2003), observó que el número de parejas, el inicio temprano de relaciones sexuales y en menor medida el tabaquismo resultaron factores de riesgo para la infección por HPV. En el estudio de *Badano I. y col* (2011) se analizaron como posibles factores de riesgo la edad de la primera relación sexual, número de parejas sexuales, paridad, historia de infecciones de transmisión sexual, tabaquismo y citología cervical, y observaron asociación con el hábito de fumar, el número de parejas sexuales y antecedentes de infecciones de transmisión sexual.

Al analizar la distribución de infección por HPV y edad, se observó el mayor número de casos (54,19%) en el rango etario comprendido entre 15 y 26 años, lo que concuerda con *Venezuela R. y col* (2012), y difiere de *Tonon S. y col* (2003) donde hallaron la mayor frecuencia de HPV positivo en el rango de edad comprendido entre 31-35 años (52,8%). No se halló diferencias estadísticamente significativas ($p=0,079$) sin embargo en la literatura se registra a menudo esta asociación como señaló *Mendoza L. y col* (2012) en un estudio realizado en Paraguay.

En general se observa una prevalencia más elevada de infección por HPV en las edades inmediatas al inicio de las relaciones sexuales y esto respondería al comportamiento sexual y hábitos de una comunidad (*Bosch José F. y col*, 2006). En nuestro estudio se observó que el 73,54% de las pacientes infectadas con HPV se iniciaron sexualmente entre los 15 y 18 años, pero esto no resultó de significación estadística. *Ponce Coello T. y Uyaguari Díaz L.* (2015) realizaron un estudio en Ecuador en mujeres trabajadoras de la salud y tampoco hallaron asociación estadística significativa analizando la edad de inicio de las relaciones sexuales.

Hemos encontrado que la prevalencia de HPV aumenta con el número de parejas sexuales y esta asociación resultó estadísticamente significativa ($p=0,045$). No obstante, el comportamiento sexual masculino podría influenciar el riesgo de infección de su actual pareja, independientemente de la conducta sexual de estas mujeres. En cambio *Camargo Pinzón S.* (2011) observó que tener de 2 a 3 compañeros sexuales durante la vida resultó ser un factor de protección al analizar la asociación con infecciones por el HPV.

Con respecto al número de embarazos, las mujeres de este estudio que no habían cursado embarazos tuvieron una mayor frecuencia de infección por HPV (36,84%) que las que tuvieron entre 1 y 2 embarazos previos (26,60%) y aquellas que cursaron más de 3 embarazos (25,64%) ($p=0,042$). Nuestras observaciones coinciden con las de *Camargo Pinzón S.* (2011). Este investigador argumenta que esta asociación puede ser explicada en el hecho de que las mujeres sin gestación podrían involucrarse en conductas sexuales de riesgo, como ser tener más compañeros sexuales y también en el mayor uso de anticonceptivos hormonales. En cambio para *Badano I. y col* (2011), la paridad no representó un factor de riesgo.

El tipo de método anticonceptivo usado por nuestra población (DIU, profiláctico, ligadura de trompas, entre otros) no resultó un factor de riesgo. Se halló que en el grupo de mujeres HPV positivas, el 39,3% usaba el método anticonceptivo oral pero no se encontró asociación significativa ($p=0,511$). Aunque *Bosch José F. y col* (2006) encontraron diferencias estadísticamente significativas.

El hábito de fumar no representó un factor de riesgo respecto a la infección por HPV en este estudio, nuestros datos difieren con *Badano I. y col* (2011), quienes analizaron una población de mujeres de bajos recursos, y con lo observado por *Tonón S. y col* (2003), quienes hallaron al tabaquismo como factor de riesgo en un grupo de mujeres tomadas al azar en ciudades de la provincia de Misiones.

Al analizar la asociación de RIV e infección por HPV en las mujeres se consideró que la ausencia de asociación estadística significativa era de esperar, pues el ciclo biológico del virus se cumple íntegramente dentro de las células, desde su entrada en las células basales (o las de reserva del endocervix) hasta la superficie del epitelio plano estratificado.

Por otra parte, como el virus posee mecanismos para evadir la respuesta inmune (interferencia con la síntesis de la proteína transportadora de los péptidos hasta las moléculas de Clase I de las células del epitelio plano estratificado, interferencia con la síntesis de las mismas moléculas de Clase I, expresión de moléculas de Clase II en células infectadas, sin acompañamiento de moléculas co-estimuladores, con la consecuencia de la anergia clonal), no es acompañado por expresión de citoquinas inflamatorias. Incluso cuando el virus es detectado, su desaparición se produce por apoptosis de queratinocitos (vía independiente de p53) por medio de linfocitos citotóxicos (CD8+); y este mecanismo no es inflamatorio.

Los resultados de identificación y tipificación del HPV en este estudio, aportan información sobre la persistencia de una prevalencia elevada del HPV en mujeres sexualmente activas así como porcentajes elevados de genotipos oncogénicos en esta región de Argentina.

Aunque es muy probable que las infecciones por HPV detectadas en las jóvenes sean transitorias, es de destacar que fueron mujeres que acudieron al laboratorio por

un estudio de exudado vaginal, sin antecedentes de lesión cervical o estudio previo de Papanicolaou alterado.

5.8. Asociación entre Estados Vaginales Básicos y diferentes agentes etiológicos

La presencia de *Trichomonas vaginalis* se visualizó solamente en los EVB III y V. De las 14 pacientes infectadas con tricomonas, el 21,42% pertenecían al EVB III y el 78,57% al EVB V, hallándose asociación estadística significativa en el EVB V ($p < 0,001$), OR= 19,7; 95% IC: 5,3-72,3. El riesgo de padecer tricomoniasis y EVB V fue casi 20 veces superior al comparar con los otros EVBs en nuestra población de mujeres.

Al analizar la asociación entre la presencia de *C. trachomatis* y los EVBs, se observó que el 32,56% (14/43) correspondió a muestras de secreción vaginal con microbiota normal (EVB I). Entre las que presentaron alteraciones de la microbiota vaginal se observó el 9,30% (4/43) en el EVB II, el 6,98% (3/43) en el EVB III, el 13,95% (6/43) en el EVB IV y el 37,21% (16/43) en el EVB V.

Aunque se identificó presencia de *C. trachomatis* en todos los EVBs, se observó asociación estadísticamente significativa con vaginitis microbiana inespecífica (EVB V) ($p < 0,001$). El riesgo de padecer clamidiasis y presentar un EVB V es tres veces superior respecto a los restantes EVBs. (OR= 3,21; IC 95%: 1,64 -6,25).

En las infecciones por HPV, la presencia del virus fue independiente de los EVBs. Se observaron 155 mujeres portadoras del HPV, de las cuales el 34,84% se correspondieron con el EVB I, el 18,06% al EVB II, el 7,10% al EVB III, el 23,87% al EVB IV y el 16,13% al EVB V. No se halló asociación estadísticamente significativa entre los EVBs y la presencia de HPV.

5.9. Parámetros descriptivos de pruebas diagnósticas

Hemos estudiado los parámetros de exactitud diagnóstica para analizar la utilidad de evaluar el diagnóstico clínico como predictor de vaginosis bacteriana y obtuvimos un VPP de 26,41%, dato que coincide con la *Guía Práctica Integral de diagnóstico de vaginosis- vaginitis en la atención primaria de la mujer en edad fértil. Actualización 2011*, donde se afirma que el VPP del diagnóstico sindrómico para distinguir el estado de vaginosis o vaginitis, no supera el 50%.

En un estudio realizado en 2004 por *Landers D. y col* en Pittsburgh (EE.UU) se evaluaron valores predictivos y otros parámetros de exactitud diagnóstica en una población de mujeres con sintomatología de infección del tracto genital inferior, hallaron un VPP de 79,68 % y un VPN de 90,56%. Se debe destacar que, la prueba de referencia para obtener valores predictivos resultó similar a nuestro estudio, pero la diferencia en los valores predictivos podría deberse a que *Landers D. y col* incluyeron en el diagnóstico clínico la combinación de síntomas y pruebas de determinación de pH, detección de aminas y observación de células guía, realizadas en el consultorio.

Los resultados de las razones de verosimilitud indican la escasa utilidad del manejo sindrómico en la consulta médica para predecir correctamente la VB, más aun considerando el bajo costo y fácil aplicación del BACOVA.

Al analizar y comparar las Tablas 36 y 37 de este estudio se observa la mayor sensibilidad de los EVBs con RIV para predecir infección por *T. vaginalis* (78,57%) respecto a *C. trachomatis* (46,51%) con similares resultados de especificidad.

Las prevalencias de infección resultaron disímiles en ambas infecciones (2,77 % y 8,51). Del mismo modo, los valores predictivos fueron diferentes, resultando superior el VPP en *C. trachomatis* (11,97% vs 6,58 %) e inferior el VPN en este microorganismo respecto a *T vaginalis* (93,19 % vs 99,11%).

El valor predictivo negativo (VPN) resultó óptimo para predecir la ausencia de infección por *T. vaginalis* (99,11%) indicando que en las mujeres con EVBs sin RIV, la probabilidad de padecer esta infección es muy baja o casi nula. De modo similar, aunque con mayor incertidumbre, podría considerarse en infección por *C. trachomatis* (VPN=93,19%).

Las razones de verosimilitud positiva (Pos LR) también resultaron diferentes para ambos microorganismos. El Pos LR indicó en este estudio que las pacientes con tricomoniasis mostraron 2,43 veces mayor probabilidad de padecer un EVB con RIV respecto a aquellas mujeres sin esta infección. Este resultado y el obtenido para Neg LR (0,32) expresaron la limitada utilidad de esta prueba. Los valores de estos parámetros en tricomoniasis resultaron de mayor certidumbre que los obtenidos en la infección por *C. trachomatis* (Pos LR = 1,43 y Neg LR = 0,79).

En el estudio de *Landers y col* (2004) se utilizó la secreción mucopurulenta como predictor de infección por *C. trachomatis* o *N. gonorrhoeae* utilizando como estándar de referencia una técnica de PCR. En ese diseño, que se consideró similar al nuestro (EVBs con RIV), se observó que el VPP (17,30%) resultó ligeramente superior al obtenido en nuestro estudio (11,97%) para un valor de prevalencia levemente superior (10,20 % vs 8,51%).

Al analizar la prueba de identificación de HPV en este diseño, la sensibilidad y especificidad de los EVBs alterados para predecir infección por HPV fueron 65,16% y 37,61% respectivamente.

El valor predictivo positivo (31,66%) indicó la probabilidad de que aproximadamente 1 de cada 3 pacientes padeciera infección por HPV a partir de la obtención de EVBs alterados.

Los resultados próximos a 1 de la razón de verosimilitud, Pos LR (0,94) y Neg LR (0,95), indicaron la poca utilidad del uso de los EVBs alterados para predecir infección por HPV, reducir la incertidumbre diagnóstica y por lo tanto discriminar entre pacientes infectadas y no infectadas.

Los resultados de las Tablas 39 y 40 muestran la construcción de los parámetros de razón de verosimilitud para los grupos de mujeres sintomáticas y asintomáticas del estudio. En ambos grupos, la mayor fuerza de la prueba diagnóstica (EVB II y V como indicadores de RIV) como poder discriminante se observa en los valores obtenidos para predecir infecciones por *T. vaginalis* al comparar con los resultados de

infecciones por *C. trachomatis* o HPV.

El poder intrínseco de cada prueba también indica, para los parámetros de sensibilidad y especificidad, la mayor utilidad de los EVB II y V para identificar la proporción de mujeres sintomáticas y asintomáticas infectadas por *T vaginalis* respecto a *C. trachomatis* y HPV.

Por otra parte los valores predictivos positivos observados en mujeres sintomáticas y asintomáticas resultaron inferiores al 35%, aunque esto resulta condicionado por los resultados de prevalencia para cada microorganismo obtenido en el estudio.

6

CONCLUSIONES



Costanera de la ciudad de Posadas (Misiones)

6. CONCLUSIONES

1. El estudio identificó que una de cada tres mujeres presentaron microbiota normal. Los EVBs alterados comprometieron a más de la mitad de las mujeres y las alteraciones más frecuentes resultaron la vaginosis bacteriana (21,38%) y vaginitis microbiana inespecífica (17,42%).

2. Se detectaron disfunciones vaginales en aproximadamente la mitad de las mujeres (45,4%) que no refirieron síntomas al momento de la consulta.

3. La infección por levaduras se observó con mayor frecuencia en el estado vaginal básico II (36,36%). Además, una de cada cinco mujeres sintomáticas embarazadas padeció esta infección.

4. El mayor riesgo de infección por levaduras se asoció a pacientes sintomáticas y a mujeres con RIV.

5. El estudio no detectó desarrollo de *Neisseria gonorrhoeae* en las pacientes investigadas.

6. La prevalencia de *T. vaginalis* en mujeres sintomáticas fue 4,52% y en asintomáticas 0,83%. Este agente se asoció con: sintomatología ginecológica, presencia de RIV y aunque no resultó estadísticamente significativo, mostró tendencia con el mayor número de parejas sexuales.

7. La prevalencia de *C. trachomatis* en mujeres sintomáticas fue 11,32% y en asintomáticas 5,4%. Entre las mujeres sintomáticas embarazadas la prevalencia se incrementó al 14,03% y las asintomáticas embarazadas 8,16%. El mayor riesgo de infección correspondió a las mujeres que pertenecían al grupo etario comprendido entre 15 y 26 años y a las que manifestaron síntomas ginecológicos en la consulta.

8. La prevalencia de identificación del ADN del HPV en mujeres sintomáticas fue 29,43% y en asintomáticas 32,08%. Los genotipos de alto riesgo oncogénico (66,21%) resultaron predominantes respecto a los de bajo riesgo (33,78%). El mayor riesgo de identificación de HPV se asoció con el mayor número de parejas sexuales y con mujeres que no habían cursado embarazos.

9. La vaginitis microbiana inespecífica (EVB V) mostró potente asociación con *T. vaginalis* y en menor grado con *C. trachomatis* y con levaduras respecto a los restantes estadíos vaginales básicos. Sin embargo no se observó asociación entre infección por HPV y los diferentes EVBs.

10. Los resultados de valores predictivos y de razones de verosimilitud indican la escasa utilidad del manejo sindrómico en la consulta médica para predecir correctamente la VB.

11. La evaluación de valores predictivos y otros parámetros de exactitud diagnóstica utilizando la respuesta inflamatoria como prueba predictora de infección resultaron diferentes para cada agente microbiano investigado:

- Los VPP resultaron bajos para infección por *T. vaginalis* (6,58%), *C. trachomatis* (11,97%) y HPV (31,66%).

- El VPN resultó 99,11% en la infección por *T. vaginalis* indicando que en presencia

de EVB sin RIV la probabilidad de padecer esta infección es muy baja o casi nula.

- Las razones de verosimilitud positiva (Pos LR) indicaron que las pacientes con tricomoniasis presentaban 2,43 veces mayor probabilidad de padecer un EVB con RIV respecto a las mujeres sin infección.
- Los resultados de las razones de verosimilitud positiva (2,43) y negativa (0,32) expresaron la limitada utilidad de los EVBs con RIV para predecir la infección por *T. vaginalis*.
- Los resultados de las razones de verosimilitud de los EVBs con RIV indicaron escasa utilidad de los valores obtenidos para predecir la infección por *C. trachomatis* (Pos LR = 1,43 y Neg LR = 0,79).
- Los resultados próximos a 1 de la razón de verosimilitud, Pos LR (0,94) y Neg LR (0,95), indicaron la poca utilidad del uso de los EVBs alterados para predecir infección por HPV.
- Del análisis de los parámetros de exactitud de la prueba de RIV en grupos de mujeres sintomáticas y asintomáticas se observó que la mayor fuerza de esta prueba como poder discriminante correspondió a los valores obtenidos para predecir infecciones por *T. vaginalis* respecto a infección por *C. trachomatis* o HPV.

El análisis de los estudios de exactitud diagnóstica y sus parámetros utilizando los estados vaginales básicos con RIV para predecir infecciones del tracto genital inferior en mujeres son muy importantes para la valoración crítica en el desarrollo de nuevas investigaciones que contribuyan a mejorar los procedimientos diagnósticos en el quehacer clínico diario y en las estrategias preventivas de la salud sexual y reproductiva.

El conocimiento epidemiológico de las disfunciones vaginales en las mujeres estudiadas contribuye a la optimización de medidas de prevención y control de las infecciones transmitidas sexualmente y a la protección de la salud sexual y reproductiva en las mujeres afiliadas al Instituto de Previsión Social de Misiones.

Los hallazgos de porcentajes elevados de disfunciones vaginales sin etiología motivan la detección de otros agentes de transmisión sexual. Del mismo modo sería importante avanzar en investigaciones sobre genotipos de *C. trachomatis* circulantes en la región y la implementación de métodos más sensibles en la investigación de *T. vaginalis*.

7

RECOMENDACIONES



Costanera de la ciudad de Posadas (Misiones)

7. RECOMENDACIONES

- La inexactitud del diagnóstico sindrómico en la práctica clínica para distinguir vaginosis o vaginitis dan sustento a la recomendación de realizar el estudio del BACOVA en el Laboratorio del IPS como un método económico y rápido para diferenciar estos estados y proceder a estudios complementarios como cultivos o técnicas de PCR de manera más racional y eficiente.

- Los resultados de infección por clamidias en embarazadas (11,32%) indicarían la importancia de adoptar técnicas moleculares en el laboratorio del IPS para investigar *C. trachomatis* en el control de esta población con el fin de disminuir la diseminación de la infección, garantizar un tratamiento oportuno y evitar complicaciones en la salud reproductiva de las mujeres afectadas.

- Los resultados de detección del genoma de HPV en mujeres que concurren al laboratorio del IPS, indican la necesidad de promover campañas de concientización respecto a los estudios de Papanicolaou ya que observamos una gran proporción de cepas oncogénicas en las mujeres estudiadas con el fin de prevenir lesiones del cuello uterino y fortalecer la vigilancia epidemiológica de dichos genotipos en esta provincia.

- Estas recomendaciones sugeridas para el Laboratorio del IPS podrían ser adoptadas en la asistencia a mujeres de otras obras sociales de Misiones cuya población presenta características demográficas similares.



Costanera de la ciudad de Posadas (Misiones)

BIBLIOGRAFIA

- Abba M, Gomez M, Golijow C. Distribución de los genotipos del virus papiloma humano en infecciones cervicales en mujeres de La Plata, Argentina. *Rev Argent Microbiol*. 2003; 35: 74-9.
- Abdelsamed H, Peters J, Byrne G. Genetic variation in *Chlamydia trachomatis* and their hosts: impact on disease severity and tissue tropism. *Future Microbiology*. 2014; 8: 1129–1146.
- Akinbiyi A, Watson R, Feyi-Waboso P. Prevalence of *Candida albicans* and bacterial vaginosis in asymptomatic pregnant women in South Yorkshire, United Kingdom. Outcome of a prospective study. *Arch Gynecol Obstet*. 2008; 278: 463-6.
- Almonte M, Murillo R, Sánchez G, Jerónimo J, Salmerón J, Ferreccio C, Eduardo Lazcano-Ponce E, Herrero R. Nuevos paradigmas y desafíos en la prevención y control del cáncer de cuello uterino en América Latina. *Salud Pública Méx*. 2000; 52: 544-559.
- Alvis N, Mattar S, Garcia J, Conde E, Diaz A. Infecciones de Transmisión Sexual en un Grupo de Alto Riesgo de la Ciudad de Montería, Colombia *Rev Salud Pública*. 2007; 9: 86-96.
- Anderson MR, Klink K, Cohrsen A. Evaluation of vaginal complaints. *JAMA*. 2004; 291: 1368-1379.
- Angel Muller E, Ruiz Parra A. Embarazo e infecciones cérvico-vaginales. En *Obstetricia integral siglo XXI*. Universidad Nacional de Colombia. 2009. Disponible en <http://www.bdigital.unal.edu.co/1563/#sthash.8vjzxVj0.dpuf>.
- Allsworth JE, Peipert JF. Prevalence of bacterial vaginosis: 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Survey Data. *Obstet Gynecol*. 2007; 109:114 – 120.
- Al-Thani A, Abdul- Rahim H, Alabsi E, Bsaisu H, Haddad P, Mumtaz G, Abu-Raddad L. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in the general population of women in Qatar. *Sex Transm Infect*. 2013; 89: 57-60.
- Androphy E. Virus del papiloma humano y verrugas. En Engleberg NC, DiRita VJ, Dermody TS. *Schaechter Mecanismos de las enfermedades microbianas*. 5° ed. Barcelona: Wolters kluwer Health. Lippincott Williams& Wilkins; 2013; 411-418.
- Argimon Pallás J, Jimenez Villa J. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. Barcelona: Elsevier; 2004. 15: 140-150.
- Arraiz N, Marucci R, Colina S, Reyes F, Rondón N, Bermudez ., Reyna N. Infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres consultantes en Maracaibo, Venezuela. *Rev Salud Pública*. 2008; 10 (4): 615-624.
- Aznar J, Blanco M, Lepe J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales. En Cercenado E, Cantón R. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2007.
- Bachmann LH, Hobbs MM, Seña AC, Sobel JD, Schwebke JR, Krieger JN. *Trichomonas vaginalis* genital infections: progress and challenges. *Clin Infect Dis*. 2011; 53 Suppl 3: 160–172.

- Badano I, Pedrozo RW, Ruíz Díaz LS, Galuppo JA, Picconi MA, Campos RH, Liotta DJ. Human papillomavirus (HPV) detection and Papanicolaou cytology in low-resource women in Posadas city, Misiones, Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 2011; 43: 263-267.
- Batteiger B, Tu W, Ofner S, Van Der Pol B, Stothard D. Repeated *Chlamydia trachomatis* genital infections in adolescent women. *J Infect Dis.* 2010; 201: 42-51.
- Bello BD, Spinillo A, Alberizzi P, Cesari S, Gardella B, D'ambrosio G, Roccio M, Silini EM. Cervical infections by multiple human papillomavirus (HPV) genotypes: Prevalence and impact on the risk of precancerous epithelial lesions. *J Med Virol.* 2009; 81: 703-712.
- Bernard HU, Chan S-Y, Mannos MM, Ong CK, Villa LL, Delius H, Peyton CL, Bauer HM, Wheeler CM. Identification and assessment of known and novel human papillomavirus by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis.* 1994; 170: 1077- 1085.
- Black C. Current Methods of Laboratory Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* Infections. *Clin Microbiol Rev.* 1997; 160-184.
- Boletín Integrado de Vigilancia N° 243. SE 3 / 2015. Ministerio de Salud de Argentina. 2015; 91-92.
- Bologno R, Díaz Y, Giraudo M, Fernandez R, Menendez V, Brizuela J, Gallardo A, Alvarez I, Estevao Belchior S. Estudio de la Microbiota vaginal en mujeres de la ciudad de Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina. En Taller Balance del Contenido Vaginal BACOVA. XIII Jornadas Argentinas de Microbiología. 2008 Rosario Argentina.
- Bolúmar Montrull F. Medición de los fenómenos de salud y enfermedad. En Piédrola Gil. *Medicina Preventiva y Salud Pública.* 11° ed. Barcelona: Elsevier España. Masson; 2008. 87-95.
- Bosch José F, Diaz Sanchis M, Sanjosé Llongueras S, Font Marimon R, Castellsagué Piqué X, Albero Abril G, Lloveras Rubio B, Klaustermeier Lloveras J, Moreno Aguado V. Epidemiología de las infecciones por HPV: riesgo de carcinoma cervico-uterino y de otros tumores anogenitales. Nuevas opciones preventivas en: Virus del papiloma humano y cáncer: epidemiología y prevención. Sociedad Española de Epidemiología. 2006. 31-47.
- Bravo-Grau S, Cruz Q J. Estudios de exactitud diagnóstica: Herramientas para su interpretación. *Rev Chil Rad.* 2015; 21:158-164
- Brunelle BW, Sensabaugh GF. The *ompA* gene in *Chlamydia trachomatis* differs in Phylogeny and Rate of Evolution from Other Regions of the Genome. *Infect Immun.* 2006; 74: 578-585.
- Brunelle BW, Sensabaugh GF. Nucleotide and phylogenetic analyses of the *Chlamydia trachomatis* *ompA* gene indicates it is a hotspot for mutation. *BMC. research notes.* 2012; 5:53. Disponible en <http://www.biomedcentral.com/1756-0500/5/53>.
- Brunham RC, Rey-Ladino J. Immunology of *Chlamydia* Infection: Implications for a *Chlamydia trachomatis* vaccine. *Nat Immunol.* 2005; 5: 149-161.
- Burstein GR, Gaydos CA, Diener-West M, Howell MR, Zenilman JM, Quinn TC. Inci-

dent *Chlamydia trachomatis* infections among inner-city adolescent females. JAMA 1998; 280 (6):521- 526.

Camargo Pinzón SM. Determinación de la prevalencia de infección y coinfección por virus del papiloma humano (vph) y asociación con diferentes factores de riesgo. 2011. Disponible en <http://repository.urosario.edu.co/handle/10336/2666>.

Camargo M, Soto-De Leon SC, Sanchez R, Perez-Prados A, Patarroyo, ME, Patarroyo, MA. Frequency of human papillomavirus infection, coinfection, and association with different risk factors in Colombia. Annals of epidemiology. 2011, 21: 204-213.

Canto-de Cetina T, Polanco-Reyes L, Fernández-González V, Ruiz-García S. Infección por *Chlamydia trachomatis* en usuarias de dos clínicas de planificación familiar. Salud Pública Méx. 2003; 45 (sup 5):657-661.

Castillo MC. Neisseria, Acinetobacter, Moraxella y Kingella. En Basualdo J, Coto C, de Torres R. Microbiología Biomédica. 2° Edición. Buenos Aires. Atlante. 2006. 309-323.

Cárdenas Guzmán G. El Microbioma humano ¿cómo ves? Revista de divulgación de la ciencia Universidad Nacional autónoma de Mexico. 2012; 14 (167).

Cava-Torta AL, Alvarez Godeken A, Mamprín D'Andrea R, Chouhy D, Bottai H, Leiva M, Giri AA. Análisis del estado físico del HPV-16 en mujeres con y sin patología cervical. X Congreso Argentino de Virología. Rev Argen Microbiol. 2011; 43 (supl1) p 58.

Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2015; 64(No. RR-3): 1–137.

Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2014. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services; 2015. Disponible en <http://www.cdc.gov/std/stats>.

Cervantes E. Infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis*. Rev Fac Med UNAM. 2009. 52 (1): 18-22.

Cervical Cancer: NIH Consensus Statement 1996. 14(1): 1-38

Cherpes T, Meyn L, Krohn M, Lurie J, Hillier S, Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. Clin Infect Dis. 2003; 37 (3): 319-25.

Chouhy D, Mamprín D'Andrea R, Cerda MB, Botta H, Leiva M, Giri AA. Epidemiología prevacunal de la infección por HPV en mujeres sexualmente activas que concurren al hospital escuela "Eva Perón" (Santa Fe). X Congreso Argentino de Virología. Rev Argen Microbiol. 2011; 43 (supl 1) p 59.

Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, Anh PT, Ferreccio C, Hieu NT, Matos E, Molano M, Rajkumar R, Ronco G, de Sanjosé S, Shin HR, Sukvirach S, Thomas JO, Tunsakul S, Meijer CJ, Franceschi S, and the IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. Lancet. 2005; 366: 991–998.

Coppolillo E, Vay C, Menghi C, Eliseht M, Gatta C, Méndez O, de Torres R, Malamud de Ruda Vega H, Famiglietti A, Perazzi B. Prevalencia de infecciones vaginales en embarazadas sintomáticas y asintomáticas. Enfermedades del Tracto Genital Inferior.

2007; 1: 17-22.

Cravioto MC, Matamoros O, Villalobos-Zapata Y, Peña O, García-Lara E, Martínez M, Castelo J, Sifuentes-Osornio J. Prevalencia de anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* y anti-*Neisseria gonorrhoeae* en grupos de individuos de la población mexicana. *Salud Pública Méx.* 2003; 45:681-689.

Cuffini C, Bottiglieri M, Kiguen X, Alonso CE, Valdes Deimundo R, Isa MB, Cannistraci R, Gonzalez S, Farinati A. Molecular Epidemiology of Genital *Chlamydia trachomatis* Infection in Asymptomatic Adolescent-Young People. *J Microbiol Research.* 2012; 2: 114-117.

Darville T. Clamidas: patógenos genitales, oculares y respiratorios. En Engleberg NC, DiRita VJ, Dermody TS. *Schaechter Mecanismos de las enfermedades microbianas.* 5°ed. Barcelona: Wolters kluwer Health España. Lippincott Williams & Wilkins; 2013. 292-300.

De Cristofano M, Livellara B, Galli M, Schneider P, Ascione A, Famiglietti A, Vay C, Rodriguez Fermepin M, de Torres R. Dimensión de la endemia por *Chlamydia trachomatis* en el área de la ciudad de Buenos Aires (Argentina). *Enferm Infec Microbiol Clin.* 1997; 15: 134-139.

Deluca GD, Marín HM, Schelover E, Chamorro EM, Vicente L, Albhom M, Alonso JM. Infección por *Chlamydia trachomatis* y Papilomavirus en mujeres con alteraciones citohistológicas de cuello uterino. *Medicina (Buenos Aires)* 2006; 66:303-306.

Delgado Rodriguez M, Hernandez Aguado I, Lumbreras Lacarra B, Gomez Mata M. Estudio de las pruebas diagnósticas. En Piédrola Gil. *Medicina Preventiva y Salud Pública.* 11° ed. Barcelona: Elsevier España. Masson; 2008. 173- 184.

Detels R, Green AM, Klausner JD, Katzenstein D, Gaydos C, Handsfield HH, Pequegnat W, Mayer K, Hartwell TD, Quinn, TC. (2011). The incidence and correlates of symptomatic and asymptomatic *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections in selected populations in five countries. *Sex Transm Dis.* 2011; 38: 503-509.

Di Bartolomeo S, Higa M, Janer M, Pennisi A, Balbin G, Priore G, Conjuntivitis neonatal en un hospital del Gran Buenos Aires. Situación de los últimos 5 años. *Rev Argent Microbiol.* 2005; 37: 139-142.

Di Bartolomeo S, Leonino A, Rodriguez Fermepín M, de Torres R. Balance del contenido vaginal en el diagnóstico diferencial de vaginosis-vaginitis. Reacción inflamatoria vaginal en embarazadas sintomáticas. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2007; 41: 1-12.

Di Bartolomeo S, Ofner G, Leonino A, Ojeda M, Valle S, de Torres R. Balance del Contenido Vaginal. Valor de la expresión numérica en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Obst. y Ginec. Lat. Americ.* 2002; 60: 175-183.

Di Bartolomeo S, Rodriguez Fermepín M, Sauka D, de Torres R. Perfil microbiológico en secreciones genitales de embarazadas sintomáticas, en el Gran Buenos Aires, Argentina. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2001; 19: 99 -102.

Di Bartolomeo S, Rodriguez Fermepín M, Sauka D, de Torres R. Prevalencia de microorganismos asociados a secreción genital femenina, Argentina. *Rev Saúde Pública.* 2002; 36: 545-552. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102002000600002>.

Diestro Tejeda MD, Serrano Velasco M, Gómez-Pastrana Nieto F. Cáncer de cuello uterino: Estado actual de las vacunas frente al virus del papiloma humano (VPH). Oncología (Barc.) [Internet]. 2007 [citado 2015 Dic 07]; 30(2): 14-31. Disponible en: http://scielo.isciii.es/sci-hub.io/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352007000200002&lng=es.

dos Ramos Farías MC, García MN, Reynaga E, Romero M, Gallo Vaulet ML, Rodríguez Fermepín M, Fernández Toscano M, Rey J, Marone R, Squiquera L, González JV, Basiletti J, Picconi MA, Pando MA, Ávila MM. First report on sexually transmitted infections among trans (male to female transvestites, transsexuals, or transgender) and male sex workers in Argentina: high HIV, HPV, HBV, and syphilis prevalence. Int J Infect Dis. 2011; 15 635–640.

Duff P. Maternal and Fetal Infections. Creasy R, Resnik R. Maternal-Fetal Medicine Principles and Practice. 7° ed. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2014; 802-811.

Ellenson LH, Pirog EC. Aparato genital femenino. En Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster J. Robbins y Cotran Patología estructural y funcional. 8° Ed, España: Elsevier; 2010. 1005- 1064.

Esteban Hernández J, Hernández Aguado I. Estudios sobre pruebas diagnósticas En Hernandez-Aguado, Gil, Delgado, Bolumar. Manual de Epidemiología y Salud Pública. Madrid: Médica Panamericana; 2005. 81-85.

Farinati A, Zitto T, Bottiglieri M, Gastaldello R, Cuffini C. Infecciones asintomáticas por *Chlamydia trachomatis*: un problema controlable en la población adolescente. Rev Panam Infectol. 2008; 10:8-12.

Farinati A. Apuntes de laboratorio Microbiota Vaginal, Patologías infecciosas y estudios microbiológicos. Laboratorio Britania. 2013. Volumen I.

Farinati A, Mormandi J, Tilli M. Infecciones en Ginecología y Obstetricia. Del Diagnóstico al Tratamiento. Editorial Pfizer. 2013. 27-35.

Fidel JR, Sobel JD. Immunopathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. Clinical Microbiol Rev. 1996; 9: 335-348.

Fletcher RH, Fletcher SW. Epidemiología Clínica. 4° ed. Barceona: Wolters Kluwer Health España; 2008. 39-63.

Folch C, Sanclemente C, Esteve A, Martro E, Molinos S, Casabona J. Diferencias en las características sociales, conductas de riesgo y prevalencia de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana e infecciones de transmisión sexual entre trabajadoras del sexo españolas e inmigrantes en Cataluña. Med Clin (Barc). 2009; 132:385–388.

Fosch S, Fogolín N, Azzaroni E, Pairetti N, D'Ana I, Minacori H, Tita I, Redina M, Gribaudo G. Vulvovaginitis: correlación con factores predisponentes, aspectos clínicos y estudios microbiológicos. Rev Argent Microbiol. 2006; 38: 202-205.

Fosch S, Yones C, Trossero M, Grosso O. Influencia del método anticonceptivo en el perfil de la función vaginal en un microambiente social. Acta Bioquím Clín Latinoam 2011; 45:763- 772.

Franzini L, Marks E, Cromwell PF, Risser J, McGill L, Markham C, Shapiro C. Projected economic costs due to health consequences of teenagers' loss of confidentiality in obtaining reproductive health care services in Texas. *Arch Ped Adolesc Med*. 2004; 158:1140- 1146.

Frohlich K, Hua Z, Quayle A, Wang J, Lewis M. Membrane vesicle production by *Chlamydia trachomatis* as an adaptive response. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014 4: 1-11.

Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schütte UME, Zhong X, Koenig SSK, Fu L, Ma ZS, Zhou X, Abdo Z, Forney LJ, Ravel J. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci Transl Med*. 2012; 4: 1-13.

Galcerán Padrós J, Marcos-Gragera R, Izquierdo Font A, Borrás Balada J, Carcinoma Invasor y lesiones premalignas del cuello uterino en los registros poblacionales: utilidad y limitaciones. En *Virus del papiloma humano y cáncer: epidemiología y prevención*. Sociedad Española de Epidemiología; 2006; 15-26.

García L, Rubano L, Urtaran L, Hornos c, Vitale S, Recalde V, Cladera P, Hobinchet G. Detección y Tipificación del virus del papiloma humano en pacientes con lesiones precancerosas y cancerosas de cuello uterino. X Congreso Argentino de Virología. *Rev Argen Microbiol*. 2011; 43 (supl 1): 79.

García L, Richard E, Urtaran L, Recalde V, Mier V, Flores K. Primera experiencia de inclusión de la detección del virus del papiloma humano en la unidad de infecciones genitales. X Congreso Argentino de Virología. *Rev Argen Microbiol*. 2011; 43 (supl 1): 81.

García Heredia M, García S, Copolillo E, Cora Eliseth M, Barata A, Vay C, de Torres R, Tiraboschi N, Famiglietti A. Prevalencia de candidiasis vaginal en embarazadas. Identificación de levaduras y sensibilidad a los antifúngicos. *Rev Argent Microbiol*. 2006; 38: 9-12.

Gazi H, Surucuoglu S, Yolasigmaz G, Sen M, Akcali S, Dinc G, Teker A, Sanlidag T, Koroolu G. Prevalence of *Chlamydia trachomatis*/*Neisseria gonorrhoeae* and Human Papilloma Virus among Women-at Risk in the Aegian Region of Turkey, and their knowledge about HIV/AIDS. *West Indian Med J*. 2008; 57: 398-402.

Gharsallah H, Frikha-Gargouri O, Sellami H, Besbes F, Znazen A, Hammami A. *Chlamydia trachomatis* genovar distribution in clinical urogenital specimens from Tunisian patients: high prevalence of *C. trachomatis* genovar E and mixed infections. *BMC Infect Dis*. 2012, 12:333.

Goire N, Nissen MD, LeCornec GM, Sloots TP, Whiley DM. A duplex *Neisseria gonorrhoeae* real-time polymerase chain reaction assay targeting the gonococcal *porA* pseudogene and multicopy *opa* genes. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 61: 6-12.

Golparian D, Hellmark B, Unemo M. Analytical specificity and sensitivity of the novel dual-target GeneProof *Neisseria gonorrhoeae* PCR kit for detection of *N. gonorrhoeae*. *APMIS*; 2015, 123: 955-958.

Gomez M, Abba M, Golijow C, Detección y genotipificación del papilomavirus humano (HPV) por PCR-LIS-SSCP. *Rev Argent Microbiol*. 200; 33: 22-27.

González-Pedraza Avilés A, Ortiz Zaragoza C, Dávila Mendoza R, Valencia Gómez C. Infecciones cervicovaginales más frecuentes; prevalencia y factores de riesgo. *Rev*

Cubana Obstet Ginecol 2007; 33(2).

Gotsch F, Romero R, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Pineles BL, Erez O, Hassan SS. The fetal inflammatory response syndrome. Clin Obstet Gynecol 2007; 50(3):652-683.

Guerra-Infante F, Tapia-Yáñez J, López-Hurtado M, Flores-Medina S, Díaz-García F. Infección por *Chlamydia trachomatis* en varones y su asociación con las alteraciones ginecológicas de su compañera sexual. Rev Invest Clín. México. 2005; 57 (3): 405-414.

Guía Práctica Integral de Diagnostico de Vaginitis Actualización 2012. Fundación Bioquímica Argentina. Programa de Salud Sexual y Reproductiva (PROSAR).

Guindon S, Gascuel O. A simple, fast and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. Syst Biol. 2003. 52: 696-704.

Handsfield H, Sparling F. Neisseria gonorrhoeae. En Mandell, Douglas y Bennett. Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica. Vol 2. 6° ed. Madrid: Elsevier; 2006. 2514- 2529.

Hay P, Czeizel A. Asymptomatic Trichomonas and Candida colonization and pregnancy outcome. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2007; 21 (3): 403–409. doi:10.1016/j.bpobgyn.2007.02.002.

Hernández Álvarez H, Sariego Ramos I, Sarracent Pérez J. Infección humana por *Trichomonas vaginalis* y su relación con otros agentes patógenos. Rev Cuba Obs Ginecol. 2009; 35(4):108–17.

Jain S. Perinatally acquired *Chlamydia trachomatis* associated morbidity in young infants. J Matern Fetal Med. 1999; 8:130-133.

Jalal H, Stehen H, Bibby D, Sonnex C, Carne C. Molecular epidemiology of genital human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis* among patients attending a genitourinary medicine clinic – will vaccines protect? Int J STD AIDS. 2007; 18: 617-621,

Jerse A, diRita V. Neisserias: gonococo y meningococo. En Engleberg NC, DiRita V, Dermody T. Schaechter Mecanismos de las enfermedades microbianas. 5° ed. Barcelona: Wolters kluwer Health España. Lippincott Williams& Wilkins; 2013. 178- 187.

Jimenez García R, Tapias Ledesma M, Carrasco Garrido P. Medidas de frecuencia en epidemiología. En Hernandez-Aguado I, Gil de Miguel A, Delgado Rodriguez M, Bolumar Montrul F. Manual de Epidemiología y Salud Pública. Madrid: Médica Panamericana; 2005. 49-52.

Joklik W, Willet H, Amos E, Wilfert C. Chlamydiae. En Zinzer Microbiología. 20° ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1998. 973-986.

Joklik W, Willet H, Amos E, Wilfert C. Neisseria. En Zinzer Microbiología. 20° ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1998. 611-635.

Kanodia S, Fahey LM, Kast WM. Mechanisms used by human papillomaviruses to escape the host immune response. Curr Cancer Drug Targets. 2007; 7:79–89.

Karlsen F, Kalantari M, Jenkins A, Pettersen E, Kristensen G, Holm R, Johansson B, Hagmar B. Use of Multiple PCR Primer Sets for Optimal Detection of Human Papillomavirus. J Clin Microbiol. 1996; 34: 2095–2100.

Khanna Sahil, Tosh Pritish K. A Clinician's Primer on the Role of the Microbiome in Human Health and Disease. Mayo Clin Proc. 2014; 89:107-114.

La Montagne DS, Fenton KA, Randall S, Anderson S, Carter P. Establishing the National Chlamydia Screening Programme in England: results from the first full year of screening. Sex Transm Infect 2004; 80: 335 – 341.

Lamont RF, Sobel JD, Akins RA, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Romero R. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. BJOG. 2011; 118:533-49.

Landers D, Wisenfeld H, Heine R, Krohn M, Hillier S. Predictive value of de clinical diagnosis of lower genital tract infection in women. Am J Obstet Gynecol 2004; 190 (4) 1004-1010.

Lee H-Y, Hyung S, Lee JW, Kim J, Shin MH, Ryu J-S. Identification of antigenic proteins in *Trichomonas vaginalis*. Korean J Parasitol. 2011; 49:79–83.

Leguizamon L, Villalba C, Bello G, Grenón S. Perfil Microbiológico en secreciones de Embarazadas en Posadas Misiones. En libro de resúmenes: XIII Jornadas Argentinas de Microbiología. Rosario Argentina. 2008, Resumen 266 p248.

Liotta JD, Collado MS, Mampaey M, Zinovich JB, Galuppo JA, Badano I. Prevalencia por virus papiloma humano (HPV) y lesiones y lesiones asociadas en mujeres indígenas guaraníes de la provincia de Misiones. X Congreso Argentino de Virología. Rev. Argen. Microbiol. 2011; 43 (supl 1): 94.

Lizano-Soberón M, Carrillo-García A, Contreras-Paredes A. Infección por virus del Papiloma Humano: Epidemiología, Historia Natural y Carcinogénesis. Cancerología. 2009; 4: 205-216.

Llanes Rodríguez M, González Reyes O, Sánchez Miranda L, Fernández Limia O, Prevalencia de *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* y *Gardnerella vaginalis* en mujeres sin síntomas de vaginitis. Revcmhabana. 2014; 20(2).

López-Castro T, Rojas-Díaz E, Rojas-Rojas F, Díaz-Yamal I, Muñoz-Cerón J. Immune response modulation mechanisms induced by *Chlamydia trachomatis* associated with infertility. Rev Colomb Obstet Ginecol. 2012. 63: 346-355.

Mackern- Oberti JP, Motrich RD, Breser ML, Sánchez LR. *Chlamydia trachomatis* infection of the male genital tract: An update. J Reprod Immunol. 2013; 100: 37-53.

Mahony JB, Luinstra KE, Sellors JW, Jang D, Chernesky MA. Confirmatory polymerase chain reaction testing for *Chlamydia trachomatis* in first-void urine from asymptomatic and symptomatic men. J Clin Microbiol. 1992; 30: 2241-2245.

Mahony JB, Luinstra KE, Tyndall M. Sellors JW, Krepel, Chernesky MA. Multiplex PCR for Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Genitourinary Specimens. J Clin Microbiol. 1995; 33: 3049-3053.

Mannos MM, Ting Y, Wright DK, Lewis AJ, Brocker TR, Wolinsky SM. The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomavirus. Cancer cells. 1989; 7: 209-214.

Manual de procedimientos BACOVA. MPB-2011. Fundación Bioquímica Argentina. Programa de Salud Sexual y Reproductiva (PROSAR).

Maritato A, Morales A, Nastro M, deTorres R. Balance del Contenido Vaginal (BACOVA) en el diagnóstico de Disfunción Vaginal en mujeres en edad fértil y menopaúsicas. Congreso Argentino de Patología del Tracto Genital Inferior y Colposcopia. 2009. Buenos Aires.

Mason PR, Gregson S, Gwanzura L, Cappuccinelli P, Rapelli P, Fiori PL. Enzyme immunoassay for urogenital trichomoniasis as a marker of unsafe sexual behaviour. *Epidemiol Infect.* 2001; 126:103–109.

Mateos M, Chacón de Antonio J, Rodríguez-Dominguez R, Sanz I, Rubio M. Evaluation of a prototype real-time PCR assay for the separate detection of human papilloma virus genotypes 16 and 18 and other high risk human papillomavirus in cervical cancer screening. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011; 29:411-414.

Mayta, H; Gilman, RH; Calderon, MM, Gottlieb, A, Soto G, Tuero I, Vivar A. 18S ribosomal DNA-based PCR for diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38: 2683-2687.

McCormack W. Vulvovaginitis y cervicitis. En Mandell G, Bennett J, Dolin R, Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. Vol 2. 6° ed. Madrid: Elsevier; 2006. 1357-1372.

Mendez F, Munoz N, Posso H, Molano M, Moreno V, Van Den Brule AJ, Ronderos M, Meijer C, Munoz A. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types and possible implications for the prevention of cervical cancer by HPV vaccines. *J Infect Dis.* 2005; 192: 1158-1165.

Mendoza LP , Arbiza J, Páez M, Kasamatsu E, Castro A, Giménez G, Basiletti J, Gonzalez J, Mongelós P , Picconi MA. Características clínico -demográficas y tipificación del virus papiloma humano en mujeres paraguayas con citologías negativas para lesión escamosa intraepitelial. *Mem Inst Investig Cienc Salud.* 2012; 10 (1):46-55.

Lo M, Reid M, Brokenshire M. Epidemiological features of women with trichomoniasis in Auckland sexual health clinics: 1998-99. *N Z Med J.* 2002; 115(1159):U119.

Molano M, Posso H, Mendez F, Murillo R, Van Den Brule A, Ronderos M, Munoz A, Meijer C, Munoz N. (2005). Historia Natural de la infección por el virus de papiloma Humano en una cohorte de Bogotá, D.C., Colombia. *Rev Colomb Cancerol.* 2005; 9: 209-226.

Monetti M, Molina R, Estofan P, Frutos MC, Kiguen AX, Venezuela RF, Paglini G, Cuffini C. Distribution of *Chlamydia trachomatis* Genotypes in Infertile Patients of Córdoba, Argentina. *Int J Virol Mol Biol.* 2013, 2 (1): 1-6.

Morales A, Maritato A, de Torres R, Ortega Soler C. Frecuencia de disfunción vaginal (vaginosis/vaginitis) en mujeres en edad fértil, sintomáticas y asintomáticas. Programa de Salud Sexual y Reproductiva (PROSAR). Fundación Bioquímica. 2010.

Morales G, Yaneth M. Candidiasis en mujeres en edad reproductiva que asistieron al hospital Eduardo Arredondo Daza en la ciudad de Valledupar. *Revista Colombiana de Microbiología Tropical.* 2012; 2 (2): 13-21.

Munoz N, Mendez F, Posso H, Molano M, Van Den Brule AJ, Ronderos M, Meijer C, Munoz A. Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results. *J Infect Dis.*

2004; 190 (12): 2077-2087.

Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Chlamydiaceae; Microbiología Médica; 5° ed. Madrid: Elsevier; 2007. 463-472.

Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Papilomavirus y Poliomavirus; Microbiología Médica; 5° ed. Madrid: Elsevier; 2007. 523-531.

Nyirjesy P. Vulvovaginal candidiasis and bacterial vaginosis. Infect Dis Clin North Am. 2008; 22(4):637-652.

Occhionero M, Paniccia L, Pedersena D, Rossia G., Mazzucchinia H, Entrocassi A, Gallo Vaulet L, Gualtieri V, Rodríguez Fermepin M. Prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* y factores de riesgo de infecciones transmisibles sexualmente en estudiantes universitarios. Rev Argent Microbiol. 2015; 47(1):9-16

Omer EF, El-Naeem HA, Ali MH, Catterall RD, Erwa HH. Evaluation of the laboratory diagnosis of vaginal trichomoniasis in Khartoum. J Trop Med Hyg. 1988; 91(6): 292–5.

OMS 2012 (Organización Mundial de la Salud). http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2012/gonorrhoea_20120606/es/ Consultado 07/04/2015.

Ospina Diaz JM, Ariza Riaño NE. Tema de revision: *Trichomonas vaginalis*. Rev Salud Hist Sanid. 2008; 3(3):1–33.

Ostos Ortiz O, Sánchez R. *Chlamydia trachomatis*: avances y perspectivas. NOVA-Publicacion Científica. 2003; 1 (1): 81-93.

Ovalle A, Martínez M, de la Fuente F, Falcon N, Feliú F, Fuentealba F, Gianini R. Prevalencia de infecciones de transmisión sexual en mujeres embarazadas atendidas en un hospital público de Chile. Rev Chilena Infectol. 2012. 29 (5): 517-520.

Ovejero M, Qüesta D, Yachelini P. Epidemiología por virus papiloma humano en mujeres de la provincia de Santiago del Estero. X Congreso Argentino de Virología. Rev Argen Microbiol. 2011; 43 (supl1) p 58.

Pannier Stockman C, Segard C, Bennamar S, Gondry J, Boulanger JC, Sevestre H, Castelain S, Duverlie G. Prevalence of HPV genotypes determined by PCR and DNA sequencing in cervical specimens from French women with or without abnormalities. J Clin Virol. 2008; 42 (4): 353-360.

Parveen N, Munir A, Din I, Majeed R. Frequency of vaginal candidiasis in pregnant women attending routine antenatal clinic. J Coll Physicians Surg Pak. 2008; 18(3): 154- 157.

Piazzetta Pinto A, Cardoso Baggio H, Barroso Guedes G. Sexually-Transmitted Viral Diseases in Women: Clinical and Epidemiological Aspects and Advances in Laboratory Diagnosis. Braz J Infect Dis. 2005; 9:241-250.

Perazzi B, Coppolillo E, Menghi C, Elishet M, Gatta C, Vay C, Ruda Vega H, Famiglietti A. Investigación de las principales infecciones del tracto genital inferior durante el embarazo. SOGBA. 2007, 38 (200): 7-13.

Perazzi B, Menghi C, Coppolillo E, Gatta C, Elishet M, de Torres R, Vay C, Famiglietti A. Prevalence and Comparison of Diagnostic Methods for *Trichomonas vaginalis* Infection in Pregnant Women in Argentina. Korean J Parasitol. 2010; 48: 61-65.

Perazzi B, Coppolillo E, Losada M, C., Elishet M, Ruda Vega H, Vay C, de Torres R, Famiglietti A. Estudio de la Microbiota Vaginal en pacientes embarazadas portadoras de *Estreptococo* grupo B. SOGBA 2008.

Picconi MA, Teyssié A. Papilomavirus humanos. En Carballal G, Oubiña J. Virología Médica 4ª ed. Buenos Aires: Corpus; 2015. 589-598.

Pinzon J, Hernández Florez DC, Huguett Aragón CM, Másmela Caile LY. Determinación del virus del papiloma humano de alto grado en mujeres con ascus que asisten a la red de la Secretaría de Salud de Bogotá, d.c por dos técnicas de biología molecular. Laboratorio de Salud Pública Secretaría de Salud de Bogotá. 2004.

Plitt SS, Garfein RS, Gaydos CA, Strathdee SA, Sherman SG, Taha TE. Prevalence and correlates of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, trichomonas vaginalis infections, and bacterial vaginosis among a cohort of young injection drug users in Baltimore, Maryland. Sex Transm Dis. 2005; 32(7):446-453.

Ponce Coello TM, Uyaguari Díaz LM. Prevalencia de infección por genotipos de HPV de alto riesgo establecida por captura híbrida y su relación con lesiones displásicas de cuello uterino, establecidas mediante citología convencional en trabajadoras de la salud. Quito 2014. Trabajo de tesis presentado como requisito parcial para la obtención del título de Especialista en Anatomía Patológica. Instituto Superior de Investigación y Postgrado. Quito: UCE; 2015.

Posada D. jModelTest: Phylogenetic model averaging. Mol Biol Evol. 2008. 25: 1253-1256.

Pradenas M. Infecciones cérvico vaginales y embarazo. Rev Med Clin. Condes. 2014; 25 (6) 925-935. Documento descargado de <http://www.elsevier.es> el 11/10/2015.

Rodriguez Fermepín M, Entrocassi A. Chlamydiales. En Basualdo J, Coto C, de Torres R, Microbiología biomédica. 2ª ed. Buenos Aires: Atlante; 2006. 509-527.

Roisman A, Badano I, Balette IC, Picconi MA, Campos RH, Liotta DJ. Variantes Genéticas de Virus Papiloma Humano tipo 16 (HPV-16) en mujeres diagnosticadas con cáncer de cuello uterino residentes de la ciudad de Posadas, Misiones. X Congreso Argentino de Virología. Rev Argen Microbiol. 2011; 43 (supl 1) p 58.

Rumyantseva T, Golparian D, Nilsson CS, Johansson E, Falk M, Fredlund H, Van Dam A, Guschin A, Unemo M. Evaluation of the new AmpliSens multiplex real-time PCR assay for simultaneous detection of *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, and *Trichomonas vaginalis*. APMIS. 2015 123:879-886. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26299582>.

Salas-Urrutia I, Villalobos EA, Ramírez-Vega BL. Prevalencia de Displasia y Cáncer Cervicouterino y factores asociados en el Hospital Central de Chihuahua, México. CIMEL. 2006; 11 (1):12-15.

Sánchez Monroy V, Torres Mata AE, D'Artagnan Villalba Magdaleno J. Diagnóstico de infección por *Chlamydia trachomatis* mediante PCR en pacientes que acuden a la Clínica de Especialidades de la Mujer de la Secretaría de la Defensa Nacional. Ginecol Obstet Mex. 2009. 77 (1): 13-18.

Santos C, Teixeira F, Vicente A, Astolfi-Filho S. Detection of *Chlamydia trachomatis* in Endocervical Smears of Sexually Active Women in Manaus-AM, Brazil, by PCR. Braz

J Infect Dis. 2003. 7(2):91-95.

Santos Diéguez I. Tricomoniasis: una visión amplia. IATREIA. 2014; 27(2): 198-205.

Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, Francp EL. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. JAMA; 2001; 286:3106-3114.

Schwebke JR. Gynecologic consequences of bacterial vaginosis. Obstet Gynecol Clin North Am 2003; 30(4):685-694.

Serman F. Cancer cervicouterino: Epidemiología, Historia natural y rol del virus papiloma humano. Perspectivas en Prevención y Tratamiento. Rev Chil Obstet Ginecol. 2002. 67 (4): 318-323.

Sewankambo N, Gray RH, Wawer MJ, Paxton L, McNaim D, Wabwire-Mangen F, Serwadda D, Li C, Kiwanuka N, Hillie SL, Rabe L, Gaydos CA, Quinn TC, Konde-Lule J. HIV-1 infection associated with abnormal vaginal flora morphology and bacterial vaginosis. Lancet 1997; 350(9077):546-550.

Silva R, León D, Viscarra T, Ili C, Roa JC, Sánchez R, Guzmán P, Brebi P. Frecuencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* en un grupo de mujeres de la Región de la Araucanía, Chile. Rev Chilena Infectol. 2013; 30 (6): 611-615.

Smith J, Muñoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, Bosch José FX, Walboomers JM, Peeling RW. Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. J Infect Dis. 2002; 185: 324-331.

Sobel J, Wiesenfeld H, Martens M, Danna P. Maintenance fluconazole therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis. N Engl J Med. 2004; 351:876-883.

Sonnenberg P, Clifton S, Beddows S, Soldan K, Tanton C, Mercer CH, da Silva FC, Alexander S, Copas AJ, Phelps A, Erens B, Prah P, Macdowall W, Wellings K, Ison CA, Johnson AM. Prevalence, risk factors, and uptake of interventions for sexually transmitted infections in Britain: findings from the National Surveys of Sexual Attitudes and Lifestyles (Natsal). Lancet; 2013. 382(9907): 1795-1806.

Sotlar K, Diemer D, Dethleffs A, Hack Y, Stubner A, Vollmer N, Menton S, Menton M, Dietz K, Wallwiener D, Kandolf R, Bultmann B. Detection and Typing of Human Papillomavirus by E6 Nested Multiplex PCR. J Clin Microbiol. 2004; 7: 3176-3184.

Spear P. Herpesvirus α : virus del herpes simple y virus de la varicela zóster. En Engleberg NC, diRita V, Dermody T. Schaechter Mecanismos de las enfermedades microbianas. 5° ed. Barcelona: Wolters kluwer Health España. Lippincott Williams & Wilkins; 2013. 41: 419-427.

Spiegel C. Bacterial Vaginosis. Clin. Microbiol. Rew. 1991; 4 (4): 485-502.

Stamm W, Jones R, Batteiger B. Introducción a las enfermedades causadas por clamidias. En Mandell G, Bennet J, Dolin R. Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica. Vol 2. 6° ed. Madrid Elsevier; 2006. 2236-2238.

Stanley M. HPV: a master at avoiding the host defenses. HPV Today. 2007; 11: 1-16.

Stephens R. The cellular paradigm of chlamydial pathogenesis. Trends in Microbiology. 2003; 11(1): 44-51.

Taha TE, Hoover DR, Dallabetta GA, Kumwenda NI, Mtimavalye LA, Yang LP. Bacterial vaginosis and disturbances of vaginal flora: association with increased acquisition of HIV. AIDS. 1998; 12(13):1699-1706.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using Maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. Mol Biol Evol. 2011; 28: 2731-2739.

Teyssié A, Picconi MA, Alonio V. Virus Papiloma Humano. En Basualdo J, Coto C, de Torres R, Microbiología Biomédica. 2° ed. Buenos Aires: Atlante; 2006. 798-808.

Thomas KK, Hughes JP, Kuypers JM, Kiviat NB, Lee SK, Adam DE, Koutsky LA. Concurrent and sequential acquisition of different genital human papillomavirus types. J Infect Dis. 2000; 182 (4): 1097-1102.

Tilli M, Orsini A, Alvarez MM, Almuzara M, Gallardo E, Mormandi JO. ¿La presencia del pH normal descarta el diagnóstico de vaginosis bacteriana? DST j Bras Doenças Sex Transm. 2005; 17(2) 117-120.

Tonon S, Picconi M, Zinovich J, Bos P, Liotta D, Galuppo J, Alonio L, Ferreras J, Teyssié A. Infección por Virus Papiloma Humano en mujeres con cito colposcopia normal residentes en una región de alta incidencia de carcinoma de cervix: la Provincia de Misiones y áreas de influencia. Colposcopia. 1999. 2: 60-68.

Tonon S, Picconi M, Zinovich J, Liotta D, Bos P, Galuppo J, Alonio L, Ferreras J, Teyssié A. Human papillomavirus cervical infection and associated risk factors in a region of Argentina with high incidence of cervical carcinoma. Inf Dis Obstet Gynecol. 1999; 7 (5): 237-243.

Tonón S, Picconi M, Zinovich J, Nardari W, Mampaey M, Galuppo J, Bos P, Badano I, Di Lello F, Basiletti J, Gonzalez J, Alonio L, Teyssie A. Prevalencia de la infección cervical por virus papiloma humano (HPV) en población caucásica y guaraní, residente en la provincia de Misiones, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2003; 35 (4):205-213.

Tortora G, Funke B, Case C. Enfermedades microbianas de los aparatos urinario y genital. En Introducción a la Microbiología. 9°ed. Madrid: Médica Panamericana; 2007. 786-808.

Touzón M, Losada M, Eliseht M, Menghi C, Gatta C, Santa Cruz G, Malamud de Ruda Vega H, Vay C, Tatti S, Famiglietti A, Perazzi B. Evaluación de la disfunción vaginal en mujeres embarazada sintomáticas y asintomáticas mediante la utilización de los estados vaginales básicos (EVB) y su comparación con el estudio microbiológico convencional. Rev Argent Microbiol. 2014; 46 (3): 182-187.

Valencia C, Prado V, Ríos M, Cruz MA, Jacques Pilorget J. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en conjuntivitis neonatal determinada mediante las técnicas de inmunofluorescencia y amplificación génica. Rev Med Chile, 2000 128(7), 758-765.

Venezuela RF, Kiguen AX, Frutos MC, Cuffini CG. Circulation of human papillomavirus (HPV) genotypes in women from Córdoba, Argentina, with squamous intraepithelial lesions. Rev Inst Med Trop. Sao Paulo. 2012; 54 (1): 11-16.

Ventolini G. New Insides on Vaginal Immunity and Recurrent Infections. *J Genit Syst Disor.* 2013; 2:1. [http://dx.doi.org/ 2325-9728.1000](http://dx.doi.org/2325-9728.1000) e 104.

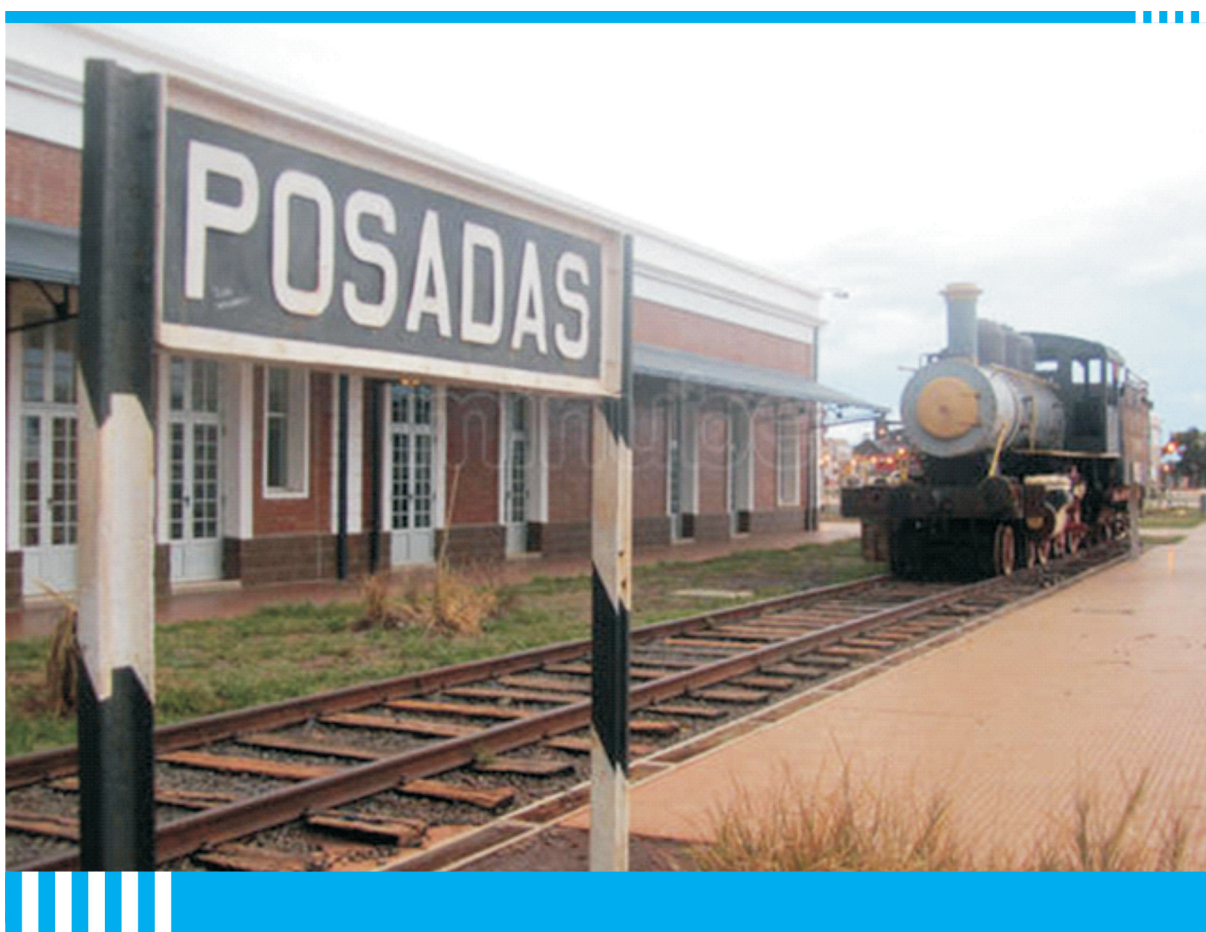
Verdessi A, Peran F, Espinosa R. Prevalencia de displasia de cuello uterino en pacientes portadoras de virus papiloma humano, Chile. *CIMEL.* 2006; 11(2):78-82.

Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. En Koneman Diagnóstico Microbiológico. 6° ed Buenos Aires: Médica Panamericana; 2008. 289-371.

Witkin SS, Ledger WJ. Complexities of the uniquely human vagina. *Sci Transl Med.* 2012; 4 (132): 1-4.

Workowski KA, Berman SM. Centers for Disease Control and Prevention sexually transmitted disease treatment guidelines. *Clin Infec Dis.* 2011; 53 (suppl 3), S59-S63.

Wang PD, Lin RS. Epidemiologic differences between candidial and trichomonal infections as detected in cytologic smears in Taiwan. *Public Health.* 1995; 109(6):443-50.



Costanera de la ciudad de Posadas (Misiones)

ANEXO I

PLANILLA DE ENCUESTA

Apellido y Nombre _____		
Dirección _____		
Edad <input type="text"/>	Teléfono <input type="text"/>	DNI <input type="text"/>
Embarazo <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Flujo <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Características del flujo
Números de embarazos <input type="text"/>	Hijos nacidos vivos <input type="text"/>	Prematuros <input type="text"/>
Edad del primer parto <input type="text"/>	Edad del primer embarazo <input type="text"/>	Color <input type="text"/>
Método anticonceptivo		Olor <input type="text"/>
<input type="checkbox"/> Oral <input type="checkbox"/> Profiláctico <input type="checkbox"/> DIU <input type="checkbox"/> Otros _____		Pica <input type="text"/>
Motivo de la consulta: _____		Otros <input type="text"/>
FUM: _____		
Edad inicio relaciones sexuales <input type="text"/>	Número de parejas sexuales <input type="text"/>	
Estado civil _____	<input type="checkbox"/> Sin pareja	<input type="checkbox"/> Pareja estable <input type="checkbox"/> Pareja no estable
Fuma <input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Edad de inicio <input type="text"/>	
Fecha del último PAP <input type="text"/>	Resultado _____	
Fecha última Colposcopia <input type="text"/>	Resultado _____	
Antecedentes HIV _____		
Antecedentes Hepatitis B _____		

ANEXO II

ACUERDO VOLUNTARIO CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por medio del presente documento y teniendo plena capacidad de mis facultades mentales, *doy mi consentimiento y me ofrezco voluntariamente* para participar de la investigación “Análisis de la utilidad del BACOVA (balance del contenido vaginal) asociado a la infección por agentes bacterianos y virales prevalentes del tracto genital inferior de mujeres en edad fértil”.

Entiendo que este estudio empleará muestras biológicas de endocervix. La cual será utilizada para la detección de Clamidias, Gonococos, Herpes, Virus Papiloma Humano.

Se que la información que sobre mi se obtenga como producto de la participación de este estudio podrá ser empleada en ámbitos científicos para favorecer el adelanto de las Ciencias Biomédicas, bajo la condición de que se preservará el carácter de confidencialidad de mi persona y de cualquier dato vinculante a la identidad de la misma.

Tengo conocimiento que los investigadores responsables de este proyecto están en un todo de acuerdo y adoptan los principios éticos, legales y jurídicos para las investigaciones médicas en seres humanos descriptas en las normas bioéticas nacionales (*Disp. ANMAT 5330/97*) e internacionales (*Código de Nüremberg, Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial y sus modificaciones Humanos de la UNESCO 11/11/97*).

Dejo explícito que se me ha puesto en conocimiento del significado de mi participación voluntaria, la duración y finalidad del estudio, los métodos diagnósticos a ser empleados y el alcance de los resultados a ser obtenidos. Así mismo he tenido la oportunidad de realizar preguntas referidas a este estudio y las respuestas recibidas han sido todas satisfactorias.

Apellido y Nombre	
Firma	Lugar y fecha
Aclaración	DNI
Dirección	

ANEXO III

PROCEDIMIENTOS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR

III.1. EXTRACCIÓN DE ADN

La extracción de ADN se realizó en forma manual utilizando el kit de extracción de Machery –Nagel siguiendo las instrucciones del fabricante.

A partir del pellet se procedió de la siguiente manera:

1.- Pre Lisis de la muestra

Se agregó 180 µl de Buffer T1 (buffer de lisis) y 25 µl de Proteinasa K. Se vortexeó para mezclar. Se incubó a 56°C hasta lisis completa. (de 1 a 3 hs). Se vortexeó 2 o 3 veces durante la incubación.

2.-Lisis de la muestra

Se vortexeó y se agregó 200 µl de Buffer B3 (hidrocloruro de guanidina 36-50%), se vortexeó e incubó a 70°C por 10 minutos.

3.- Condiciones de unión del ADN

Se agregó 210 µl de etanol (96-100%) y se vortexeó.

4.- Unión de ADN

Por cada muestra se ubicó una columna (NucleoSpin Tissue Column) en un tubo colector. Se colocó la muestra en la columna. Se centrifugó por 1 minuto a 11.000 x g. Se descartó el filtrado y se ubicó la columna en otro tubo colector.

5.- Lavado de la membrana de silica

Primer lavado: se agregó 500 µl de Buffer BW (hidrocloruro de guanidina 36-50% + isopropanol 20-50%). Se centrifugó 1 minuto a 11.000 x g. se descartó el filtrado y se colocó la columna en un nuevo tubo colector.

Segundo lavado: se agregó 600 µl Buffer B5 a la columna y se centrifugó 1 minuto a 11.000 x g. Se descartó el filtrado y se colocó la columna en un tubo colector.

6- Secado de la membrana de silica

Se centrifugó la columna a 11.000 x g.

En este paso el etanol residual es removido.

7- Elución del DNA extraído

Se colocó la columna en un tubo de 1,5ml y se agregó 100 µl de Buffer BE (5mM Tris/HCl, pH 8,5) (70°C) se incubó a temperatura ambiente por 1 minuto. Se centrifugó 1 minuto a 11.000 x g.

La elución conteniendo el DNA extraído se almacenó en freezer a -20°C.

III.2. Detección de β -actina humana

Para evaluar la calidad de la muestra, integridad del ADN y/o la presencia de inhibidores de las técnicas de amplificación de ADN se amplificó una porción del exón III del gen de la β -actina humana mediante la técnica descrita por Mayta y cols y se obtuvo un amplicón de 86 pb.

Se utilizaron los siguientes primers:

β - actina Foward: 5'GAG ACC TTC AAC ACC CCAG 3'

β - actina Reverse: 5'ATC ACG ATG CCA GTG GTAC 3'

La PCR se llevó a cabo utilizando un Termociclador Compacto Labnet, modelo MultiGene™II Personal ThermalCycler, en un volumen final de 25 µl.

Preparación de la mezcla de reacción

	Concentración inicial	Concentración final	1x
Agua			12,2 µl
Buffer	10X	1X	2,5 µl
Cl ₂ Mg	25mM	2,5 mM	2,5 µl
dNTP	10mM	0,4 mM	1 µl
Forward	10µM	0,32 µM	0,8 µl
Reverse	10µM	0,32 µM	0,8 µl
Taq polimerasa	5U/µl	0,05 U/µl	0,25 µl

Cada 20 µl de master mix se agregó 5 µl del templado.

Programa

Preincubación de	5 min a 94°C
35 ciclos de	94°C-----30 seg
	53°C-----30 seg
	72°C-----30 seg
Incubación final	72°C 3 min

Visualización de los productos de amplificación

Los productos de amplificación se corrieron por electroforesis en gel de agarosa al 2% en buffer TBE 0,5%, teñido con bromuro de etidio. Se aplicó una corriente eléctrica de 120 voltios durante 30 minutos. Se observó la aparición de bandas del tamaño del fragmento amplificado, al exponerlo a luz ultravioleta en el transiluminador. Para determinar el tamaño del producto de amplificación, se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb.

III.3. DETECCION DE *Chlamydia trachomatis*

Se realizó mediante PCR utilizando el protocolo descrito por Mahony y col. (1992). Se amplificó un fragmento de ADN del plásmido críptico con cebadores KL1 y KL2 específicos para el plásmido críptico.

Primers: KL1: 5'TCCGGAGCGAGTTACGAAGA 3'

KL2: 5'AATCAATGCCCGGGATTGGT 3'.

Preparación de la mezcla de reacción

	Concentración inicial	Concentración final	1x
Agua			7,9 µl
Buffer	10X	1	2,5 µl
Cl2Mg	25mM	2 mM	2 µl
dNTP	10mM	0,2 mM	0,5 µl
KI1	10 µM	0,4 µM	1 µl
KI2	10 µM	0,4 µM	1 µl
Taq	5U/µl	0,02 U/µl	0,1 µl

Cada 15 µl de master mix se agregó 10 µl del templado.

La PCR se llevó a cabo utilizando un Termociclador Compacto Labnet, modelo MultiGene™II Personal ThermalCycler, en un volumen final de 25 µl. Se obtuvo un amplicón de 240 pb.

Programa

Preincubación de	5 min a 94°C
35 ciclos de	94°C-----60 seg
	60°C-----60 seg
	72°C-----30 seg
Incubación final	72°C 5 min

Visualización de los productos de amplificación

Los productos de amplificación se corrieron por electroforesis en las condiciones ya descriptas.

Como control negativo de la PCR se utilizó la misma mezcla de reacción a la que se agregó agua ultra pura, y como control positivo ADN purificado de *C. trachomatis* ATCC L2/434/BU, donado por el profesor Marcelo Rodríguez Fermepin, Area de Inmunología y Virología Clínica, Cátedra de Microbiología Clínica Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

III.4. DETECCIÓN DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO

Se utilizó el protocolo de Mannos y col (1989). Se amplificó un fragmento de 450 pares de bases del genoma viral perteneciente al fragmento L1 mediante los siguientes primers:

MY 11: GCMCAGGGWCATAAYAATGG

MY 09: CGTCCMARRGGAWACTGATC

Codigo degenerado M= A+C R=A+G W=A+T Y=C+T

a.- Preparación de la mezcla de reacción

	Concentración inicial	Concentración final	1x
Agua			11,7 µl
Buffer	5X	1	7,5 µl
Cl ₂ Mg	25mM	2,5mM	2,5 µl
dNTP	10mM	0,48 mM	1,2 µl
Primer My 09	50 µM	2µM	1 µl
Primer My 11	50 µM	2µM	1 µl
Taq polimerasa	5U/µl	0,05U/µl	0,25 µl

b.- Distribución de master Mix, carga de muestras y controles

	Muestra	Control (-)	Control (+)
Agua (µl)	15	25	15
DNA muestra(µl)	10	-	-
DNA CaSKi (1/10.000µl)	-	-	10
Master mix	25	25	25
Volumen final	50	50	50

c.- Programa para la amplificación

Preincubación a	94°C	3min
35 ciclos de	94°C	1min
	50°C	1min
	72°C	1 min
Incubación final	72°C	5 min

Electroforesis

Los productos de amplificación se corrieron por electroforesis en gel de agarosa al 1,5% en buffer TBE 0,5%, teñido con bromuro de etidio. Se aplicó una corriente eléctrica de 90 voltios durante 20 minutos. Se observó la aparición de bandas del tamaño del fragmento amplificado, al exponerlo a luz ultravioleta en el transiluminador. Para determinar el tamaño del producto de amplificación, se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb.

Como control negativo de la PCR se utilizó la misma mezcla de reacción sometida a las mismas condiciones con el agregado de agua ultra pura, y como control positivo genoma de la línea celular CaSki, portadora de HPV16.

III.5. Detección del genotipo de HPV por el estudio del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)

A partir del producto de la PCR de la secuencia genética del fragmento L1 del HPV se realizó la digestión enzimática con las siguientes 7 enzimas

En este orden:

Bam H1, Ddel, HaeIII, HinfI, PstI, RsaI y Sau 3AI

1.- Se preparó un tubo para cada enzima con 10 µl de agua. Se adicionó 6,5 µl del producto de la PCR, 2 µl de Buffer y 1,5 µl (ó 1 µl) de enzima de restricción.

2.- Se incubó 2- 4 hs a 37°C.

3.- Se analizaron los productos en un gel de agarosa al 2% en buffer TBE 1X. Se sembró un control sin digerir del producto de 450 pb.

Se corrió 60 min 60 voltios

De acuerdo al patrón de bandas se determinó el tipo viral según tabla (Bernard HU y col, 1995). Anexo IV.

ANEXO IV

PATRONES DE RFLP DE LOS HPV_s MUCOSOTROPICOS

HPV Type	Bam HI	Ddel	HaeI II	HinF1	PstI	RsaI	Sau3AI	HPV Type	Bam HI	Ddel	HaeI II	HinF1	PstI	RsaI	Sau3AI
HPV6b	449	382	217	234	449	161	366	HPV56	449	307	275	449	242	310	429
		67	124	215		149	83			142	166		207	72	20
uncut: 449 bp			108			72	20	uncut: 449 bp			8			49	
HPV11	336	447	217	234	242	216	366	HPV57	449	211	449	449	296	449	328
	83	2	124	215	207	135	63			142			153		38
uncut: 449 bp			108			72	20			50					33
HPV13	372	326	204	240	213	175	372	uncut: 449 bp			46				26
	83	62	127	215	242	135	63	HPV58	449	348	449	235	216	306	366
uncut: 455 bp		67	124			73	20			101		214	207	111	57
HPV16	452	452	444	452	216	310	369	uncut: 449 bp					26	32	20
uncut: 455 bp			8		210	72	63	HPV59	452	452	396	452	426	452	402
HPV18	372	432	455	455	242	135	372				56		26		24
	83	23			213	125	63	uncut: 452 bp							20
uncut: 455 bp						85	20	HPV61	455	455	212	455	455	185	372
HPV26	455	455	455	455	102	365	372				211			180	63
uncut: 455 bp					353	72	63	uncut: 455 bp						72	20
HPV31	452	283	328	237	216	380	369	HPV62	449	449	232	449	341	359	399
uncut: 452 bp		167	124	215	210	72	63				217		108	72	30
HPV31b	452	285	328	237	216	380	369	uncut: 455 bp						18	20
uncut: 452 bp		90	124	215	210	72	63	HPV64	375	211	334	367	253	186	375
HPV32	366	320	317	234	449	216	366		83	151	124	91	179	161	63
uncut: 449 bp		83	21	124	215	161	63	uncut: 458 bp			87		26	72	20
HPV33	449	320	449	234	242	236	267	HPV66 (PAP88)	366	291	449	449	207	449	366
uncut: 449 bp		77		215	207	102	162		83	158			150	63	63
HPV34	458	211	334	458	253	186	438	uncut: 449 bp					66	20	20
uncut: 458 bp		151	124		179	161	20	HPV67	449	307	266	234	423	310	366
HPV35	452	294	261	452	426	177	369			92	183	215	26	72	63
uncut: 452 bp		135	180		26	161	63	uncut: 449 bp						67	20
HPV39	455	324	455	355	330	260	249	HPV68(ME180)	372	455	455	215	455	260	249
uncut: 455 bp		131		100	125	123	123		83			140		85	123
HPV40	240	297	447	455	455	365	240	uncut: 455 bp				100		72	63
uncut: 455 bp		132	158	8		90	132	HPV69	372	455	223	455	455	365	372
HPV42	366	341	449	234	449	242	366		83		183			72	33
uncut: 449 bp		83	108	215		135	63	uncut: 455 bp			49			18	30
HPV44	455	297	223	455	455	222	405	MM4(W13B)	455	288	455	241	455	383	435
uncut: 455 bp		112	124			161	30			167		214		72	20
HPV45	372	324	447	455	242	338	372	uncut: 455 bp							
uncut: 455 bp		83	131	8	213	72	63	MM7(PAP291)	369	452	383	452	317	380	369
HPV51	237	362	379	452	452	380	237	LVX82	83		69		135	72	63
uncut: 452 bp		215	90	73		72	132	uncut: 452 bp							20
HPV52	449	357	258	449	423	449	366	MM8(PAP155)	452	220	346	214	452	310	369
uncut: 449 bp		92	183		26		63			142	106	106		142	63
HPV53	449	206	232	368	449	449	342	uncut: 452 bp			90		95		20
uncut: 449 bp		158	217	81			87	MM9(PAP238A)	458	243	458	458	432	201	408
HPV54	369	452	217	234	452	138	369	uncut: 458 bp		215			26	161	30
uncut: 452 bp		83	127	218		125	63	LVX100	452	297	220	452	452	362	369
HPV55	455	112	215	215	455	165	405	uncut: 458 bp		155	208			72	63
uncut: 452 bp		111	124	207		117	20	IS39	455	243	455	241	455	383	435
		101	108	33		72	20	uncut: 455 bp		212	214			72	20
uncut: 452 bp		85	8			57		CP141	372	455	232	240	242	231	372
		46						LVX160	83		117	215	213	123	63
								uncut: 452 bp			106			72	20
								CP6108	369	246	325	452	452	380	369
									83	152	127			72	33
								uncut: 452 bp		54					24
								CP8304	452	452	127	452	341	452	432
											121		111		20
								uncut: 452 bp			108				
								CP4173	455	300	220	455	455	365	372
								LVX100*		155	211			72	63
								uncut: 452 bp			24			18	20
								CP8061	452	320	217	346	360	380	381
								uncut: 452 bp		132	127	106	92	72	51
											108				20

